Arbeiten aus dem Reichsgesun...

Germany. Reichsgesundhei...

ARBEITEN

AUS DEM

REICHSGESUNDHEITSAMTE



(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes)

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND

MIT 7 TAFELN UND IN DEN TEXT GEDRUCKTEN ABBILDUNGEN



BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1920

Harr,
med.
2-27-1923



ARBEITEN

AUS DEM

REICHSGESUNDHEITSAMTE

(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes)

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND

ERSTES HEFT.

MIT 6 TAFELN.

BERLIN

VERLAG VON JULIUS SPRINGER

1920

(Ausgegeben im Juni 1920)

Inhalts-Verzeichnis

Fortsetzung auf Seite 3.

Inhalts-Verzeichnis.

Viertes Heft. Ausgegeben im Dezember 1920.

Zur Kenntnis des Gießfiebers,

mit besonderer Berücksichtigung der Ausscheidungsverhältnisse der aufgenommenen Metalle Zink und Kupfer.

Von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. med. E. Rost,
Mitglied des Reichsgesundheitsamts.

Inhalt: Einleitung und Geschichte des Gießfiebers. — Eigene Untersuchungen und eigene Versuche an Menschen und Tieren. — Zusammenfassung. — Schlußsätze. — Anhang: Versuchsaufzeichnungen. — Literaturübersicht.

Einleitung und Geschichte des Gießfiebers.

Arbeiter, die beim Messing- oder Gelbgießen beschäftigt sind, wobei in besonderen, gut ziehenden Öfen in Tiegeln Kupfer, mit Zink im bestimmten Verhältnis versetzt, unter Zusatz von Kohle zum Schmelzen gebracht und die flüssige Legierung in freistehende Formen, unter beträchtlicher Entwickelung feinster weißer Flöckchen infolge der Verflüchtigung von Zink bei der hohen Schmelztemperatur des Kupfers, gegossen wird, können unter Umständen von einer anfallsweise auftretenden, kurzdauernden Erkrankung befallen werden, die als Gelbgießer-, Gießer-, Guß-, Messing-, Zink- oder meistens als Gießfieber bezeichnet wird. Obwohl das Gießfieber[1]), das mehr einer rasch ablaufenden, akuten Infektionskrankheit als einer der üblichen Vergiftungen gleicht, schon 1832 als intermittierendes Fieber (Messing-Malaria) bei den Messinggießern Birminghams in der Fachliteratur sich erwähnt findet, bereits 1845 in Frankreich genauer beobachtet und in Beziehung zum Zinkgehalt der Gießdämpfe — im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Zinkschmelzen und -destillieren — gebracht und seit 1862 in England und in Deutschland von Ärzten wiederholt eingehend auf Grund eigener Beobachtungen beschrieben wurde, ist es noch 1901 von K. B. Lehmann als „eine der interessantesten[2]), aber unbekanntesten Krankheiten“ und selbst 1910 als „zu den wenigen, bis auf den heutigen Tag fast vollkommen ungeklärten gewerblichen Erkrankungen gehörend“ von Arnstein bezeichnet worden.

[1]) Es ist hier eingehender die Geschichte des Gießfiebers behandelt, weil keine der vorliegenden Arbeiten die vorhandene einschlägige Literatur vollständig berücksichtigt und weil darin entgegen der Angabe Hohmanns wichtiges Tatsachenmaterial enthalten ist. — Ein Literaturnachweis findet sich am Schluß der Abhandlung.

[2]) Desgleichen Kisskalt (1912).

Sowohl hinsichtlich der Aufstellung des typischen Krankheitsbildes, der Reihenfolge, in der die regelmäßig auftretenden Zeichen sich einstellen, als auch hinsichtlich der Abgrenzung des Gießfiebers von Erkrankungen nach chronischer Messingeinwirkung, nach dem Schmelzen und Gießen anderer Metalle (Zink) und Metallegierungen [1]) und hinsichtlich der Ursache herrschte lange Zeit mehr oder weniger große Unsicherheit; die letzte Ursache und der Mechanismus der Entstehung der Erkrankung sind auch heute noch nicht zweifelsfrei festgestellt. Nur hatte man schon frühzeitig erkannt, daß das Gießfieber nichts mit der Einwirkung der beim Schmelzen und Gießen von Metallen herrschenden hohen Temperatur an sich zu tun hat und auch nur selten beim Einatmen der beim Schmelzen unvermischten Zinks sich bildenden Dämpfe entsteht, daß es rasch vorüber geht, sein einmaliges Überstehen einen eigentlichen Schutz nicht verleiht und, selbst wenn es oft durchgemacht wird, den betreffenden Arbeiter nicht nachweisbar in seiner Gesundheit dauernd beeinträchtigt.

Gegenüber dem Zinkguß herrschen — worauf schon Blandet und Greenhow aufmerksam gemacht haben — beim Gießen zinkhaltiger Kupferlegierungen insofern andere Verhältnisse, als Zink bereits bei Temperaturen über 400° C (Schmelzpunkt 419° C) schmilzt, während der Schmelzpunkt des Kupfers bei etwa 1090° C[2]), d. h. bei einer Temperatur liegt, bei der das Zink bereits siedet, destilliert (Siedetemperatur 930° C). Um nicht allzu große Verluste an entweichendem und an der Luft zu Zinkoxyd (Flores Zinci, Lana philosophica, Nihil album) sich oxydierendem Zink zu erleiden, ist die frühere Arbeitsweise, bei der die beiden Metalle in Lagen übereinander, durch Kohle getrennt, zum Schmelzen gebracht wurden (nach Roth), meist verlassen worden; man erhitzt zunächst im Tiegel das unvermischte Kupfer bis zum vollständigen Schmelzen und setzt dann erst Zink in dem je nach der Art der zu erzielenden Legierung notwendigen Verhältnis zu. Auch schmilzt man vielfach unter Zusatz von Altmessing. Die verwendeten Metalle pflegen nicht rein zu sein; sie können Blei, Zinn, Eisen, Antimon, Arsen und Cadmium enthalten.

Zum ersten Mal[3]) scheint das Auftreten unvermittelt, mit Kälteschauern einsetzender Fieberanfälle bei Messinggußarbeitern (brass-melters und -founders) in Birmingham 1832 von Thackrah beobachtet zu sein. Er beschreibt[4]) diese von den

[1]) Arnstein gibt an, daß das Gießfieber hauptsächlich bei Bronzegießern auftrete.

[2]) Siedepunkt des Kupfers bei 2240° C. Neuerdings ist eine Vergiftung, analog einer akuten Influenza, bei Arbeitern vorgekommen, die in einem Dreiphasenbogen-Ofen geschmolzenes Kupfer (1300° C) während eines halben Arbeitstages abgestochen und dabei an den Elektroden wohl verdampfendes Kupfer eingeatmet hatten. Zunächst stellten sich Atmungsbeschwerden ein, die Erkrankung steigerte sich und zeigte am nächsten Tag etwa die Erscheinungsform eines plötzlichen Influenzaanfalles (Hansen).

[3]) Nach Kißkalt soll der älteste beschriebene Fall von Ettmüller herrühren. (Zitiert in Schlegels Übersetzung von Patissiere Neubearbeitung von Ramazzinis „Krankheiten der Künstler und Handwerker". Ilmenau 1823, S. 102.) Nach der Orginalstelle handelt es sich aber um die Erkrankung eines Zinngießers, die mit den Erscheinungen des Gießfiebers nichts gemein hat: Nächtlicherweise einsetzende Asthmaanfälle, die den Erkrankten zwangen, am geöffneten Fenster Luft zu holen.

[4]) Der Kritik dieser ersten einschlägigen Mitteilung durch Simon & Knyvett in Olivers bekanntem Handbuch als clearly inaccurate kann auf Grund des Wortlauts der Originalabhandlung nicht beigetreten werden.

Arbeitern mit „brass-ague" bezeichnete Erkrankung kurz als intermittierendes Fieber folgendermaßen: „The brass-founders suffer from the inhalation of the volatalized metal. In the founding of yellow brass in particular, the evolution of oxide of zinc is very great. It immediately affects respiration: it less directly affects the digestive organs. The men suffer from difficulty of breathing, cough, pain at the stomach, and sometimes morning vomiting.

The brass-melters of Birmingham state their liability also to an intermittent fever, which they term the brass-ague, and which attacks them from once a month to once a year, and leaves them in a state of great debility. As a preventive, they are in the habit of taking emetics."

Schon die 1845 von Blandet (1) veröffentlichte kurze Mitteilung über die Wirkungen der Dämpfe des Zinks auf den Organismus erfaßte in allen wesentlichen Punkten[1]) das Symptomenbild, das Einsetzen nach einer Latenzzeit, den typischen Ablauf, die Folgeerscheinungen richtig, bezeichnet diese nicht in Zinkhütten, wohl aber beim Messing- und Bronze-, dann aber auch beim Neusilbergießen auftretende Erkrankung als Einwirkung des eingeatmeten Zinks[2]) (Zinkoxyd) auf den Körperhaushalt, erörtert die beim Zusammenschmelzen von Zink (35 und mehr Prozent) mit Kupfer eine Verdampfung des Zinks begünstigende Erhöhung der Schmelztemperatur, während beim Zinkguß die Temperatur nicht so hoch getrieben zu werden braucht, bespricht die äußeren Bedingungen, die das Auftreten des Gießfiebers begünstigen, empfiehlt eine Behandlungsweise, die lange Zeit in der Folge angewendet wurde, und macht Vorschläge zur Verhütung dieser Anfälle. Diese erste eingehende Beschreibung des Krankheitsbildes lautet in den wichtigen Teilen:

„Les accidents, inhérents à la profession de fondeur en cuivre, se manifestent dans l'après-midi ou le lendemain[3]) des jours de fonte; en voici les principaux: courbature, douleurs musculaires, oppression, céphalalgie, vomissements; frissons persistant durant trois ou quatre heures et se terminant par des sueurs copieuses et une réaction fébrile . ."

An anderer Stelle schildert Blandet (3), daß bei dem Sohn des Fabrikherrn Soyez, der, um die Wirkungen des Zinks auf den Menschen kennen zu lernen[4]), mit einem Arbeiter zusammen 17 Stunden lang (früh 4 bis abends 9 Uhr) Messing (Kupfer und etwa 10% Zink) schmolz und goß, sich im Bett tremblement und frisson einstellte, worauf weitere zwei Stunden später la scène change . . ., la peau devient brûlante, la face est rouge. Cette fièvre chaude dure une heure, de la somnolence lui succède jusqu'au matin. Am nächsten Tag blieb dieser Erkrankte im Bett und

[1]) Mit dieser Veröffentlichung hat Blandet — entgegen dem Urteil Simons & Knyvetts — unsere Kenntnis über die Erkrankung sachlich gefördert, wie aus obigen Ausführungen zur Genüge hervorgeht. Ganz neuerdings wird übrigens das Verdienst Blandets auch von anderer Seite gewürdigt.

[2]) Il n'y a qu'une voix dans les ateliers pour le rapporter au zinc (Blandet 2).

[3]) Wohl nur, wenn die Arbeitszeit am vorhergehenden Tag sich bis in den späten Abend ausdedehnt hat.

[4]) Anscheinend der zur Orientierung vorgenommene erste Selbstversuch, das Gießfieber zu erzeugen.

war am übernächsten Tag wieder vollständig hergestellt. Der mit Soyez beschäftigte Arbeiter scheint die gleichen Einwirkungen an sich erlitten zu haben; leider fehlen alle näheren Angaben. Der französische Arzt Reboulleau hat bereits 1840 das Gießfieber nicht nur an Arbeitern beobachtet, sondern auch an sich selbst hervorgerufen[1]). Die Symptome dieser Vergiftung, die sich einstellte, nachdem Reboulleau mehrere Male an einem Tag dem Gießen beigewohnt hatte, sind in dem von der Akademie erstatteten Bericht nicht mit abgedruckt, weil sie durchaus einem Malariaanfall glichen.

Die Krankheit war nach Blandets Bericht in keinem Fall über 24 bis 48 Stunden ausgedehnt. Den später gebräuchlichen Namen für diese Erkrankung (courbature oder fièvre des fondeurs oder accès de fièvre nocturne) wendet Blandet noch nicht an; er bezeichnet sie, wie auch die zunächst nachfolgenden französischen Autoren als „maladie du zinc".

Dagegen behält Greenhow für die von ihm 1858 in Birmingham und seitdem in anderen englischen Fabrikstädten und wiederholt in Birmingham beobachteten und 1862 beschriebenen Fälle akuter Gießererkrankung den bei den Arbeitern gebräuchlichen Namen ague als „brass-founders' ague" bei, obwohl er damit keinen Zusammenhang mit der Malaria (febris acuta; ague) dartun wollte; diese Bezeichnung ist auch jetzt noch in der englischen Fachliteratur die übliche.

In einzelnen Betrieben — allein in der Stadt der Metallbearbeitung Birmingham besuchte Greenhow über 30 Gießereien — angeblich völlig unbekannt[2]), war das Gießfieber in anderen so häufig, daß fast jeder Arbeiter davon wiederholt befallen war; mehr als 70 der befragten Arbeiter beschrieben die Krankheit als well-defined form of ailment, die fast immer erst nach dem Verlassen der Arbeitsstätte begann, mit fast den gleichen Ausdrücken; Greenhow schildert nach den Angaben eines intelligenten Arbeiters den Anfall folgendermaßen: On returning home or during the night, he feels nervous, becomes cold and has chattering of the teeth. The cold sometimes passes into a hot stage, but, whether this happens or not, the attack invariably passes off with a profuse sweating. He feels indisposed on the following day, but not incapacitated for work. Bei einem andern Arbeiter, der während 25-jähriger Beschäftigung oft unter dem Gießfieber gelitten hatte, meist nach ein- bis zweitägigem Fernsein von der Arbeitsstätte, aber auch ohne Aussetzen der Arbeit bei nebeligem Wetter, verlief die Krankheit folgendermaßen:

The attacks commence with a sense of constriction and tightness of the chest, accompanied by cough and nausea . . . These premonitory symptoms are followed by trembling and chattering with cold, even though close to the fire, subsequently given place to profuse sweating. On the following day he is quite well.

Die Bezeichnung brass-ague, metal-ague usw. war gewählt worden, weil sowohl das intermittierende Auftreten der Anfälle als auch die Art des Beginns mit dem

---

[1]) Anscheinend der erste von einem Fachmann (Arzt) vorgenommene Selbstversuch, das Gießfieber zu erzeugen.

[2]) So lagen bei Hohmanns Umfrage auch später in manchen Gebieten Deutschlands keine Erfahrungen über das Gießfieber vor.

perakut einsetzenden Fieberfrost[1]) an die Intermittens (acuta) erinnert[2]). Auch Greenhow hat auf Grund seiner zahlreichen Beobachtungen in Betrieben Englands in den wesentlichen Punkten das klinische Bild des Anfalls richtig beobachtet: Das nach einer stundenlangen, symptomlos nach dem letzten Messingguß verflossenen Zeit plötzlich und meist völlig unvermittelt einsetzende Fiebergefühl mit Mattigkeit, Schwäche und Schüttelfrost — ohne Erscheinungen vonseiten des Magendarms —, das folgende Schweißstadium[3]) und das Fehlen von Folgeerscheinungen nach der rasch abklingenden, im ganzen kurz dauernden Erkrankung. Ein Arbeiter hatte bereits 25 Jahre lang Messing gegossen und oft unter dem Gießfieber gelitten; ein anderer hatte es hunderte von Malen durchgemacht. Auch Greenhow konnte sich überzeugen, daß in Eisengießereien, wo ähnliche äußere Temperaturverhältnisse herrschen, und bei der Herstellung galvanisierten Eisens, wobei die Arbeiter über geschmolzenem Zink arbeiten, aber die Temperatur nicht hoch genug ist, um Zink zu verflüchtigen, niemals solche Fieberanfälle vorkommen. Sie traten immer nur auf, wenn Messing oder eine andere stark zinkhaltige Legierung gegossen wurde; je größer die Mengen Zink waren, die dem Kupfer zugesetzt wurden, um so eher trat die Erkrankung auf; je geringer der Zinkzusatz oder je mehr altes Messing mitgeschmolzen wurde, umso weniger waren die Arbeiter gefährdet.

Im Laufe der Zeit sind manche anderen Zeichen des Gießfieberanfalls beschrieben worden, so: starke Kopfschmerzen (fixer Kopfschmerz in der Schläfengegend, Eulenberg, Villaret), Erbrechen, kolikartige Schmerzen im Anfang der Erkrankung, später stärkerer Husten und heftige Brustschmerzen; auch nur annähernd regelmäßig treten keine von ihnen, auch die beiden erstgenannten nicht, auf, sie sind wohl vielfach auf die frühere Länge der Arbeitsdauer[4]) und die recht mangelhaften Betriebseinrichtungen der früheren Zeit und die Unreinheit der verwendeten Metalle zurückzuführen. Die vom belgischen Medizinaloberinspektor für 1904 (Wilke) nach dem Gießen von Messing (66 % Kupfer, 33 % Zink und 1 % Blei) beschriebenen Symptome: Schwindel, Sinnestäuschungen[5]), schreckhafte Träume, krampfartige Bewegungen, Kolik, Verstopfung sind sonst nicht gemeldet; zum eigentlichen Bild des Gießfiebers gehören sie jedenfalls nicht.

Unerklärlich ist aber die Angabe Simons, daß die konstanten Symptome, Schüttelfrost, Hitzestadium und Schweißausbruch, sollen fehlen können; sind sie nicht vor-

---

[1]) Eulenberg schildert dieses wichtige Symptom auf Grund von zahlreichen Beobachachtungen in einer großen Gefangenenanstalt folgendermaßen: Das Frösteln zeige sich zuerst unter der Form von Horripilationen zwischen den Schulterblättern mit leichtem Zittern, steigere sich aber immer mehr zu einem heftigen Frostanfall wie im Kältestadium der Intermittens.

[2]) Milzschwellung macht Gießfieber trotz ursprünglicher vereinzelter Behauptung nicht.

[3]) „4—5 Hemden, die ausgewunden werden können, müssen in einer Nacht gewechselt werden.“ (Angabe eines von Sigel befragten Arbeiters). „Mein Hemd und Bettuch war zum Ausringen.“ (Hohmanns Arbeiter.)

[4]) Der Sohn des Fabrikherrn Soyez und ein Arbeiter waren 17 Stunden lang mit Gießen beschäftigt; es kann aber schon die Teilnahme an einem einzigen Guß (Sigel, Lehmann) das Gießfieber auslösen.

[5]) Solche berichtet von Blandet im Falle Soyez.

handen, so ist man m. E. nicht berechtigt, von einem Gießfieber zu sprechen (s. später), desgleichen nicht, wenn keine Temperaturerhöhung vorhanden ist[1]).

Wiederholt findet sich die Angabe, die Arbeiter hätten während der Arbeit oder später (Bargeron[2])) einen süßen Geschmack empfunden. In den Berichten des englischen Gewerbeinspektors für 1905 wird z. B. diese Geschmacksempfindung beschrieben, ebenso in denen des belgischen Medizinaloberinspektors (Wilke). Sigel und Lehmann erwähnen diesen süßlichen, metallischen (Sigel), an Saccharin erinnernden (Lehmann) Geschmack am Zungengrund ausdrücklich.

Als ein weiteres auf die Beschäftigung mit Messing hindeutendes Kennzeichen ist eine grüne Linie am Zahnrand beschrieben worden, die allerdings bei Messinggießern bei weitem nicht so häufig ist wie bei den Messingbearbeitern.

Die Messinggießer haben meist eine blasse Gesichtsfarbe (s. auch später S. 9).

In Deutschland, in dessen Fachliteratur das Messinggießfieber 1855 (Falck) und 1857 (Langendorff) auftaucht, scheint dieser Krankheitskomplex zum ersten Male auf Grund eigener Beobachtung von Schnitzer (1862) in Berlin und zwar an einem in etwas längeren Zwischenräumen gießenden Gelbgießer, der solche Anfälle als durchaus nichts Ungewöhnliches bezeichnete, beobachtet worden zu sein; er schildert das Fieber als anfallsweise auftretendes Krankwerden, das fast regelmäßig bei jedem länger dauernden Guß sich einstelle und sich in heftigen Kopfschmerzen, Neigung zu Erbrechen, hierauf Frost, der sich jedoch nicht zum Schüttelfrost steigerte, dann Hitze und starkem Schweiß, der mehrere Stunden anhielt, äußere; am nächsten Tag große Mattigkeit, belegte Zunge, mangelhafter Appetit, womit aber auch der Anfall schließe.

Zehn Jahre später folgte dann die wichtige Beschreibung der von Hirt an sich selbst beobachteten Gießfieberanfälle. Von ihm rühren die ersten Angaben über das Verhalten des Pulses her; er beobachtete im Fieberstadium bis zu 100 und 120 Schläge in der Minute. Arnstein hat später bei sämtlichen Versuchspersonen Tachycardie beobachtet und sieht sie als regelmäßiges Zeichen des Gießfiebers an. Messungen der Körpertemperatur sind anscheinend erst von Czajkowski vorgenommen worden; die von ihm beobachteten Temperaturerhöhungen betrugen bis zu 39 und 40°.

Mit dem Schweißausbruch vollzieht sich auch die Entfieberung und es tritt Erleichterung[3]) ein, so daß schon am nächsten Morgen normale Temperaturen vorliegen; nur Arnstein und Lehmann sahen bisweilen auch noch am übernächsten Morgen erhöhte Temperatur, Arnstein bei zu Versuchszwecken hervorgerufenem Messinggießfieber, Lehmann bei dem Arbeiter, der nach dem Einatmen von Dämpfen unvermischten,

---

[1]) Sigel rechnet zum typischen Krankheitsbild nur als charakteristische Symptome Luftbeengung, Frieren, Schüttelfrost und extremstarken Schweißausbruch, nicht aber auch Temperatursteigerung.

[2]) Die Arbeiter hätten, nachdem sich die Müdigkeit, Schwere der Beine eingestellt hat, auch eine Art Reizung im Rachen mit süßem Geschmack des verschluckten Speichels empfunden („das Stück Zucker“; es sei, als habe man im Schlund ein Stückchen Zucker, das nicht rutschen wolle).

[3]) Bisweilen ist der Anfall so heftig und der Schüttelfrost so stark, daß manche Arbeiter das Gefühl hatten, als ob sie sterben müßten (Hohmann).

reinen Zinks erkrankt war. Die Atmung ist entweder überhaupt nicht oder nicht charakteristisch in Mitleidenschaft gezogen.

Albuminurie ist nur ganz vereinzelt beobachtet worden. Sigel hat bei einem Fall Albuminurie (z. T. mit vereinzelten Zylindern) an den Gießtagen auftreten sehen. Dr. I. Zadek, der als Vertrauensarzt der Norddeutschen Metall-Berufsgenossenschaft in Berlin viel mit Gießarbeitern in seiner kassenärztlichen Praxis zu tun hat, hat dem Verfasser in einem Brief vom 23. September 1909 mitgeteilt, daß er nur zweimal bei Gießereiarbeitern im Anschluß an Gießfieber mehrtägige Albuminurie beobachtet habe.

Lehmann berichtet auch, daß bei seinem Gießarbeiter am dritten Versuchstag eine ausgebreitete Entzündung der feineren Bronchien auskultatorisch festgestellt werden konnte, was aber nicht zum typischen Bild gehört; bei der Gießarbeit sind mannigfache Möglichkeiten für Erkältungskrankheiten gegeben.

Die Frage, ob das Gießfieber das spektrale Verhalten des Blutes beeinflußt, scheint bisher außer von Sigel, der auch das histologische Blutbild bei sich während des Anfalls[1]) und nach demselben prüfte und unverändert fand, nicht geprüft zu sein; die spektroskopische Untersuchung ergab normale Verhältnisse, insbesondere kein Kohlenoxyd-Hämoglobin. Arnstein, der Zählungen der weißen Blutkörperchen vornahm und das Blut im Austrichpräparat auf die einzelnen Arten untersuchte, fand eine stets nachweisbare Leukocytose (bis 16000 Leukocyten im cbmm) infolge ausschließlicher Beteiligung der polymorph-kernigen, neutrophilen Zellen, während die eosinophilen Zellen, die beim Infektionsfieber meist gänzlich schwinden, unbeeinflußt waren.

Bei der besonders schweren Erkrankung von Soyez war in der zweiten Nacht nochmals ein Schweißausbruch aufgetreten, sonst ist nur von einer einzigen Seite angegeben worden, daß bisweilen an den typischen Anfall sich ein zweiter, schwächerer anschließen könne (Czajkowski). Demgegenüber erwähnt Schnitzer ausdrücklich, daß bis dahin (1862) am 2. oder 3. Tag niemals ein weiterer Fieberanfall aufgetreten sei.

Damit dürften die Angaben der Fachliteratur über das klinische Bild des Gießfiebers erschöpft sein[2]).

Aus den zahlreichen Einzelbeschreibungen läßt sich über die Häufigkeit der einzelnen Fieberanfälle, über die erworbene Resistenz nach überstandenem Anfall und über eine bestehende relative oder absolute Immunität (Toleranz, Idiosynkrasie) und über eine verschiedene Disposition (besondere Anfälligkeit) folgendes entnehmen.

In einem Betriebe erkranken im Laufe der Zeit keineswegs alle Arbeiter oder an bestimmten Tagen durchaus nicht sämtliche beim Gießen beschäftigten Leute; die einen bleiben überhaupt frei, die andern werden einmal oder einige wenige Male

---

[1]) Der allerdings kein typisches Gießfieber genannt werden darf, da das Maximum der gemessenen Temperatur nur 37,2° betrug und nur ein mäßig starker Schweißausbruch auftrat; spätere Versuche, Gießfieber an sich zu erzeugen, schlugen fehl.

[2]) Die von Graeve geschilderten zwei Fälle von angeblichem Gießfieber nach dem Arbeiten mit Zinkguß sind weder nach dem Symptomenbild noch nach der Kürze der Inkubationszeit als Gießfiebererkrankungen anzusehen. Wenn die Erkrankung bzw. der Todesfall tatsächlich auf die Einatmung von Dämpfen beim Zinkguß zurückzuführen sind, so dürften andere Bestandteile der Zinkgießdämpfe in dem besonderen Fall hierfür verantwortlich zu machen sein.

befallen, vereinzelte haben das Gießfieber hunderte von Malen durchgemacht. Hohmann, der das Gießfieber an sich studieren wollte, gelang es nicht es hervorzurufen.

Unbefriedigend ist noch die Angabe Thackrahs, das intermittierende Fieber, die Messing-Malaria, befalle die Gießer Birminghams von einmal im Monat bis einmal im Jahr; offenbar hat Thackrah sich hierbei gänzlich auf Angaben der Arbeiter gestützt und selbst Fälle nicht beobachtet[1]). Gut unterrichtend sind die Angaben Reboulleaus, der Gelegenheit hatte, zu beobachten, wie sich die Gesundheitsverhältnisse der Arbeiter in einer kleinen, in Paris 1840 errichteten Messinggießerei verhielten. Es wurde in der Woche an einem Tage gegossen, wobei jedesmal während 12stündiger Arbeitszeit wenigstens 8 Güsse zur Ausführung kamen. Zunächst besorgten 4 Arbeiter, Gießneulinge, das Gießen, alle 4 erkrankten an Erscheinungen, die in der Natur und in der Reihenfolge einem accès de fièvre intermittente glichen. Die Arbeiter wurden gegen Ende des Tages ergriffen; der Anfall kam während der Nacht, am folgenden Tage waren die Leute arbeitsfähig. Später wurden die Arbeiter gewechselt, keiner zeigte aber eine vollständige Immunität. Die Arbeiter verhielten sich ganz verschieden: sehr häufig waren die Arbeiter nach mehreren, selten nach vier bis fünf, bisweilen aber sogar schon nach einem Anfall vor weiteren Gießfiebererkrankungen gefeit. Zwei Arbeiter aber erkrankten nach jedem Gießtag, so daß sie entmutigt die Gießarbeit aufgaben. Greenhow erwähnt, daß das Gießfieber in manchen Fällen häufig vorkomme, daß diejenigen, welche nur gelegentlich arbeiten, oder solche Gewohnheitsarbeiter, die ein paar Tage abwesend waren, eher erkranken als solche, die ständig mit Gießen beschäftigt sind (es genügt schon eine 1—2tägige Abwesenheit). Ein Arbeiter, der in etwas längeren Zwischenräumen goß, blieb nach kürzer dauernden Güssen frei, wurde aber nach jeder länger dauernden Gießarbeit vom Fieber befallen (Schnitzer). Rambousek spricht geradezu von einer Idiosynkrasie einzelner. Nach Simons Beobachtungen in Birmingham kommt das Gießfieber niemals unter den regulären Arbeitern vor, befällt aber immer die Neulinge oder solche Arbeiter, die nach einer Abwesenheit von einem oder einem halben Monat die Gießarbeit wieder aufnehmen. Nach den Erhebungen des englischen Medizinalinspektors war die Häufigkeit der Anfälle sehr verschieden; oft einmal in der Woche, fast immer nach einer Arbeitspause und zwar schon nach ein oder zwei Tagen auftretend. Der von Sigel beobachtete 58jährige Vorarbeiter einer Cannstatter Gießerei goß in mehrtägigen Zwischenräumen und zeigte an neun Gießtagen folgenden klinischen Befund usw.

1905 26. April nach stundenlanger Latenz typischer Anfall mit Schüttelfrost und Schweiß. Höchsttemp. 37,0°, 90 Pulse. 350 ccm Harn von zehn Nachtstunden, rotbraun, 1,022 spez. Gew., 0,75% Eiweiß, Spuren von Zink.

29. April desgleichen Frieren, leichter Schüttelfrost, starker Schweißausbruch, aber wiederum ohne Fieber. 250 ccm Harn, schmutzigtrüb, 1,028 spez. Gew., kein Zink.

[1]) Immerhin scheint von Thackrah die grundlegende Beobachtung gemacht zu sein, daß das Gießen von Messing ein von Zeit zu Zeit einsetzendes Frostfieber erzeuge. Wenn er auch nicht die Bedingungen für das Eintreten dieses Fiebers erkannt hat, so hat er doch als erster über das die Messinggießer befallende eigentümliche Fieber berichtet. Daß Thackrah den brass ague als echte Malaria angesehen hat, kann wohl aus dem Wortlaut der Originalstelle nicht herausgelesen werden.

3. Mai kein Gießfieber, Harn vom spez. Gew. 1,017, kein Zink.

6. Mai Gießfieber so stark wie selten. Höchsttemp. 38,8°. 900 ccm Harn, 1,012 spez. Gew., Spuren von Zink.

10. und 13. Mai heftiges Gießfieber; Höchsttemp. 39,2°. 450 ccm Harn (12 Stunden), deutliche Zinkreaktion.

17. und 20. Mai kein Gießfieber.

27. Mai Gießfieber. 12stündiger Harn (480 ccm), 0,5 % Eiweiß, ohne Zinkreaktion.

Vielfach wird die Höhe des Zinkgehaltes der Legierung als mitbestimmend für das Auftreten des Gießfiebers angegeben (Greenhow, englischer Medizinalinspektor, Hohmann).

Der Selbstversuch Soyez' zeigt, daß nach 17stündiger Gießarbeit zwar eine schwere, aber doch eine innerhalb 48 Stunden vorübergehende Erkrankung eingetreten ist. Nach Lehmann und nach Arnstein genügt aber bereits die Teilnahme an einem einzigen Guß, d. h. der Aufenthalt von etwa 5 Minuten Dauer am Gießplatz, wobei mit etwa 30 l Luft nach angestellter Analyse (Arnstein) 7 mg Zinkoxyd eingeatmet werden. Damit dürften die beiden Extreme der Gießdampfeinatmung aus der Fachliteratur wiedergegeben sein.

Von den meisten Autoren wird das Gießfieber als eine ungefährliche, keine Nacherkrankungen hervorrufende Erkrankung bezeichnet; nur Sigel weist darauf hin, daß man es in seiner Wiederholung wohl nicht als harmlos ansehen dürfe, da u. a. auch mit Nierenschädigungen zu rechnen sei. Auch trete bei Arbeitern, die sich nicht an das Gießfieber gewöhnen können, allgemeine Mattigkeit, fahles, schlechtes Aussehen ein (s. S. 6).

Ob eine absolute Immunität einzelner vorkommt, d. h. ob einzelne Arbeiter nach längeren Arbeitspausen selbst dann nicht erkranken würden, wenn zinkreiche Legierungen in niedrigen, schlecht ventilierten Räumen bei nebligem Wetter und bei lange dauernder Arbeitszeit zum Gießen kämen, ist nicht bekannt, nach Arnstein sind manche Arbeiter völlig immun; Lewin gab an, Gießer zu kennen, die trotz täglichen Gießens dagegen immun sind; auch nach der landläufigen Ausdrucksweise besteht solches Gefeitsein. Tatsächlich gibt es Arbeiter, die unter den üblichen Arbeitsbedingungen niemals ein typisches Gießfieber erlitten haben; man hat sie aber nicht einem Versuch unter den geschilderten erschwerenden Bedingungen unterworfen, so daß nur eine relative Immunität behauptet werden kann. Nach Roth sollen im Durchschnitt 75 % der Messinggießer [1]) am Gießfieber erkranken. Daß früher die

[1]) Worauf Roth diese Behauptung stützt, ist nicht bekannt, möglicherweise hat hierzu eine falsch verstandene Mitteilung Greenhows Veranlassung gegeben, nach der mehr als 70 der befragten Arbeiter das Krankheitsbild in gleicher Weise, fast mit denselben Ausdrücken geschildert haben. — K. B. Lehmanns Arbeiter hat angegeben, alle Arbeiter seines Betriebes hätten sich gleich verhalten, keiner sei auffällig unempfindlich gewesen; im Winter hätten alle Arbeiter dann und wann das Fieber gehabt; man gewöhne sich nicht daran. Er kenne das Fieber vom ersten Tag seiner Gießertätigkeit. Die Anfälle seien nicht heftiger, aber auch nicht milder geworden. Bisweilen habe er früh einige Stunden aussetzen müssen, weil er sich wie zerschlagen fühlte; im Winter kam wöchentlich auf die 40 Arbeiter seines Betriebs eine große Anzahl ganzer ausgefallener Tage wegen Gießfiebers.

Krankheit infolge der mangelhaften Betriebseinrichtungen weit häufiger war und viel schwerer als heutzutage auftrat, bezeichnet Sigel als feststehend.

Was die Behandlung der an Gießfieber Erkrankten anlangt, so ist die ursprüngliche, von den Befallenen gewählte Anwendung von Brech- und Abführmitteln später verlassen worden; eine spezifische Behandlungsweise gibt es nicht; sie ist rein exspektativ oder symptomatisch. Auch haben die Arbeiter anfänglich, von der Annahme ausgehend, daß Schwitzen den Anfall abkürze, durch heiße alkoholische Getränke und durch heißen Tee sich in Schweiß zu bringen versucht. Vielfach ist heiße Milch im Froststadium getrunken und z. T. amtlich (Simon & Knyvett) empfohlen worden; ihre Wirkung wird schon von Greenhow wohltätig genannt. Gegen den bisweilen heftigen Hustenreiz ist ihre Wirkung erklärlich. Es wird aber auch kalte Milch getrunken; ihr eine metallfällende Wirkung im Magen zuzuschreiben, ist ohne Bedeutung, da Zink von den Atemwegen aus zur Wirkung kommen dürfte. Neuerdings wird von den Arbeitern auch Bärentraubenblätter-Tee, der bereitzuhalten sei, gerühmt. Der preußische Bericht erwähnt den Gebrauch von Magnesia usta, Sigel hat Natriumbikarbonat verordnet[1]). Überhaupt ist, da die Mattigkeit und der Frostschauer so plötzlich einsetzen, daß der Befallene sich gezwungen sieht, sich ins Bett zu legen oder bringen zu lassen, der Erkrankte einschläft und nach Stunden in der Nacht wieder erleichtert erwacht und am Morgen im wesentlichen wiederhergestellt ist, ärztliche Hilfe kaum in Anspruch genommen worden; ein Krankenhaus scheint niemals aufgesucht worden zu sein. Hieraus erklärt es sich, daß dem praktischen Arzt diese Erkrankung im allgemeinen unbekannt ist und daß sie sich in klinischen Lehrbüchern nicht findet (Graeve, Zadek[2])). Die Krankenkassen können keine verläßliche Auskunft geben, weil die meist nur einen Tag dauernden Erkrankungen nicht zu ihrer Kenntnis gebracht werden (Preuß. Jahresberichte).

Die Verhütung des Gießfiebers hängt so eng mit der Frage nach der Ursache und den unterstützenden Faktoren für das Auftreten des Fiebers zusammen, daß sie erst später zu erörtern ist.

Schon von Blandet ist darauf hingewiesen worden, daß auch die Nachbarschaft der Messinggießereien gesundheitlich bedroht sei; doch ist kein Fall näher bekannt, daß Leute in der Umgebung einer solchen erkrankt sind. Blandet spricht nur ganz allgemein davon: Les habitants voisins d'une fonderie en ressentent quelquefois les effets. Auch Langendorff spricht von der Einwirkung des Zinkoxyds auf die Umgebung.

Die Vermutung, daß auch die Nachbarschaft gesundheitlich bedroht ist, ist indessen unwahrscheinlich, insbesondere nachdem durch Bischoff 1855 (Arnsberg) die Frage geprüft worden ist, ob durch das Verdampfen des Zinks eine schädliche Ein-

---

[1]) Von antipyretischen Mitteln sah Sigel keinen Erfolg.

[2]) Zadek schreibt, daß die Gießer das Fieber als so gewöhnlich und selbstverständlich hinnehmen, daß sie nicht zum Arzt gehen oder schicken; so komme es, daß die wenigsten Ärzte wohl selbst Gelegenheit gehabt haben, das Gießfieber zu beobachten.

Auch Strümpell erwähnt das Gießerfieber in seinem Lehrbuch (1918) nur im Anhang bei den Vergiftungen, als durch überhitzte Zinkdämpfe entstehend.

wirkung auf die Pflanzen und Menschen der Umgebung, wie behauptet wurde, zu befürchten sei. Das gebildete Zinkoxyd fand sich zum größten Teil schon innerhalb des Blechmantels des Ofens als dicke Schicht niedergeschlagen, die unten aus 76% Zinkoxyd und 24% Ruß, drei Fuß über dem Mantel nur noch aus 15% Zinkoxyd bestand, in den oberen Teilen des Schornsteins aber immer weniger Zinkoxyd enthielt. In dem in der Nähe der Fabriken auf Pflanzen usw. gesammelten Staub konnten nur in einem einzigen Falle Spuren von Zinkoxyd nachgewiesen werden.

Bemerkenswerter Weise hat schon Blandet gewerbehygienische Aufklärung und Ratschläge gegeben; das Gießfieber „wüte" besonders dann unter den Arbeitern, wenn der Schornstein schlecht ziehe, bei Wind, der den Rauch in den Gießraum hineindrücke, bei kaltem Wetter, wenn die Türen geschlossen werden, und wenn das Ausgießen des Messings in die Formen in der Mitte des Arbeitsraumes erfolge. Zur Abhilfe müßten die Schmelzräume von den Gießräumen getrennt, das Gießen unter einem mit einem Abzug versehenen Rauchfang (hotte communiquant avec une cheminée d'appel) vorgenommen und endlich die Gießereien möglichst aus bewohnten Vierteln wegverlegt werden. Gleichwohl tritt das Gießfieber erst 1871—1876 in der deutschen gewerbehygienischen Literatur auf, obwohl die toxikologische seit 1855, als C. Ph. Falck das Gießfieber auf Grund der damals vorliegenden, besonders von Blandet herrührenden Betrachtungen als einen der morbi ex usu Zinci acuti oder als Dyscrasia Zinci beschrieben hat, diese interessante Erkrankung erwähnt (Hasselt, F. A. Falck), wie auch die pharmakologischen Hand- und Lehrbücher sich mit ihm beschäftigen.

1871—1875 bespricht L. Hirt in seinen „Beiträgen zur Förderung der öffentlichen Gesundheitspflege (Die Krankheiten der Arbeiter, die infolge der Einatmung von Gasen und Dämpfen entstandenen Krankheiten und die von ihnen besonders heimgesuchten Gewerbe- und Fabrikbetriebe)" das Gießfieber auf Grund eigener Beobachtungen; 1876 folgt ihm Eulenberg, der Gelegenheit hatte, in einer großen Strafanstalt seine Beobachtungen anzustellen.

Besonders hervorzuheben sind die amtlichen Erhebungen in einzelnen Staaten des Deutschen Reichs (Preußen, Württemberg, Bayern [Pfalz]), denen dann Hohmanns Feststellungen folgten. Die Feststellungen der preußischen Regierungs- und Gewerberäte in den Jahren 1894 erfolgten auf Grund einer Anordnung des Ministers für Handel und Gewerbe. Es war durch die Gewerbeaufsichtsbeamten berichtet worden, daß die Messinggießereien zum Teil noch in schlecht gelüfteteten Kellerräumen betrieben würden und daß infolge ungesunder Verhältnisse in vielen dieser Anlagen das Gießfieber keine selten vorkommende Erkrankung sei. Im ganzen gab es 73 Messinggießereien mit 310 Gießern. Von diesen Gießräumen lagen 46 in Kellerräumen, die als ungeeignet bezeichnet wurden, 26 im Erdgeschoß und eine, eine Musteranlage, im Dachgeschoß. Den Arbeitern wurde empfohlen, sich Mund und Nase während des Gießens mit feuchten Schwämmen oder einem Tuch zu verbinden und die Schmelztiegel nach Möglichkeit bedeckt zu halten. Als die beste Bekämpfung wurde die Schaffung einer wirksamen Ventilation mit Exhaustoren usw. bezeichnet; gegebenenfalls ist die Abtrennung der Gießräume von den Formerräumen vorzunehmen.

1903 enthalten die Berichte der Gewerbeaufsichtsbeamten die Ergebnisse der Erhebungen in Gießereien Württembergs, der Pfalz und im Elsaß. Die Verhältnisse in Württemberg hat Sigel mit verarbeitet. Hier sind ferner die bemerkenswerten Feststellungen Hohmanns anzuschließen, der 1902 auf Lehmanns Veranlassung Fragebogen an 50 deutsche Fabrikinspektorate, an Fabrikärzte, Betriebe und Ärzte zur Erforschung des Gießfiebers ausschickte.

In den Jahren 1902 und 1903 wurde — im Anschluß an Erhebungen im Jahre 1894 (Simon und Knyvett) — eine Untersuchung von 500 Messingarbeitern in Großbritannien (21 Fabriken Birminghams) vorgenommen, worunter 233 Messinggießer (Mischer, Gießer und Handlanger beim Mischen und Gießen) waren; außerdem wurde das königliche Arsenal besichtigt, in dem 58 Personen Kanonenmetall (Legierung mit nur 10% Zink) gossen. Von 216 Gießern beantworteten die schriftlich gestellte Frage, ob ihr Gesundheitszustand nach ihrer Meinung durch die Arbeiten mit Messing irgendwie beeinträchtigt sei, 23% mit Ja.! Auf Befragen gaben sie an, das Gießfieber sei selten; als sie aber veranlaßt wurden, die Krankheitszeichen nach der Gießarbeit anzugeben, zeigte es sich, daß von 139 Gießern doch 123 (64%) die Zeichen des typischen Gießfiebers an sich verspürt hatten. Das Gießfieber war also auch hiernach häufig. Die Feststellung, daß in einer Fabrik von 58 Gießern von Kanonenmetall nur 6 unbestimmte Symptome eines fraglichen Gießfieberanfalls vorbringen konnten, während in einer nahe dabei gelegenen Fabrik, in der hochzinkhaltiges Messing gegossen wurde, von 10 nur einer kein Gießfieber durchgemacht hatte, zeigt, von welchem Einfluß der Zinkgehalt der Legierung ist.

Über das Ergebnis der vom englischen Staatssekretär des Innern angeordneten Erhebung der Kommission für Entschädigung bei Gewerbekrankheiten 1907, sowie über entsprechende Erhebungen in Belgien berichtet Wilke.

Sigel konnte in Württemberg in Eisengießereien trotz genauester Nachforschung nie einen Fall von Gießfieber finden, obwohl dem schmelzenden Metall Gase entweichen und dem Gußeisen Kohlendämpfe entströmen. In mehreren Zinkgießereien war nur bei Überhitzung des Zinks Gießfieber beobachtet worden (s. später). In Messinggießereien besichtigte er mehr als 100 Arbeiter.

Greenhow, Roth und Zadek geben an, daß die Arbeiter sich durch Vorhalten eines Taschentuches vor Mund und Nase, durch Vorbinden eines Schwammes, eines Tuches oder Respirators oder durch Geschlossenhalten des Mundes vor dem Einatmen größerer Mengen Gießdämpfe zu schützen suchen. Diese kleinen, auch vom preußischen Ministerium für Handel und Gewerbe empfohlenen Mittel würden, selbst wenn sie regelmäßig angewendet würden, kaum ihren Zweck erfüllen. Auch für Messinggießereien in der bayerischen Pfalz wurden seinerzeit Respiratoren mit feuchten Schwämmen verlangt.

Von welchem Einfluß auf die Entstehung des Gießfiebers die Höhe der Arbeitsräume ist, zeigen die Feststellungen der Gewerbeaufsichtsbeamten in Württemberg: Die größeren Gießereien von 8 bezw. 10—12 m Höhe, darunter eine mit künstlicher Absaugung der Dämpfe, zeigten nur wenige Erkrankungsfälle, mehr dagegen die Gießereien mit 4—5 m Höhe und gewöhnlicher Lüftung durch Fenster

und Oberlichter. Als am schlimmsten wurden die Verhältnisse in einer nur 2,4 m niedrigen, kleinen Gelbgießerei bezeichnet, in der die Arbeiter beinahe nach jedem Gießtag das Fieber bekommen.

Mit Recht wird in diesen amtlichen Berichten darauf hingewiesen, daß Respiratoren oder Freiluftatmer nicht zu verwenden sind, weil sie den Arbeitern die notwendige große Bewegungsfreiheit nehmen würden. Die einfache Lüftung genügt nicht; überall da, wo Dämpfe eingeatmet werden können, ist die Vorbedingung für das Auftreten von Gießfieber gegeben. Es muß also ausgiebige Beseitigung der Gießdämpfe durch Exhaustoren gefordert werden.

Auch nach Hohmanns Ansicht sind günstige Raum- und Abzugsverhältnisse das wirksamste Mittel, das Auftreten des Gießfiebers zu verhüten, so ist nach seiner Feststellung in dem neu erbauten, hohen, mit wirksamer Absaugvorrichtung versehenen Gießraum der Firma C. Zeiss in Jena das Gießfieber fast völlig verschwunden. Roth erwähnt, daß in der Messinggießerei des Feuerwerkslaboratoriums in Spandau Absaugeleitungen mit innen eingebauten, elektrisch betriebenen Ventilatoren angebracht sind: die Leitungen sind drehbar, können ausgezogen und zusammengeschoben und jeweils über die auszugießenden Tiegel und die zu füllenden Formen gestülpt werden. Ein von der Firma Rainsford & Lynes in Birmingham[1]) gebauter und von Knyvett begutachteter Absaugeapparat läßt höchstens 15% der gesamten Gießdämpfe in den Raum treten; er hat weiter den Vorteil, daß man das im Absaugerohr niedergeschlagene Zink wiedergewinnen kann. Sigel erwähnt eine wirksame, einen 40—50fachen Luftwechsel in der Stunde gestattende Lüftungseinrichtung der Firma Schreider in Feuerbach.

Wenn man Angaben, wie die von Roth und Zadek liest, daß die Arbeiter jedesmal nach beendigtem Guß schleunigst den Raum verlassen und schwitzend ins Freie eilen, so versteht man, wenn Tatham die Messinggießerei-Betriebe recht ungesund nennt, Zadek das Messinggießen noch 1908 u. U. als eine ganz augenscheinlich gesundheitsschädliche Beschäftigung bezeichnet, die in unserer Zeit der vervollkommneten Technik nicht mehr geduldet werden sollte, und Sigel staatliche Vorschriften über Größe und Höhe des Gießraumes, Konzessionspflicht und Überwachung durch die Gewerbeaufsichtsbeamten befürwortet. Gewisse Vorschriften für Arbeitgeber hinsichtlich Größe und künstlicher Entlüftung der Gießräume und für Arbeitnehmer hinsichtlich des persönlichen Verhaltens in den Gießräumen bestehen nach Simon und Knyvett auf Grund der Sektion 8 des Factory & Workshop Act 1891 und der Sektion 28 desselben Gesetzes 1895 in England.

Mit dem Auftreten von Gießfieber muß überall da gerechnet werden, wo Messing gegossen wird; so hat Rambousek (2) auf Grund von Erhebungen in Böhmen neuerdings auf eine weitere Industrie aufmerksam gemacht, in der Gießfieber beobachtet worden ist, die Uhrenindustrie.

Vollkommen neue Gesichtspunkte kamen in der Frage auf, als man sich ärztlicherseits experimentell mit der Erzeugung des Gießfiebers befaßte und

---

[1]) The Birmingham Daily Mail vom 13. Oktober 1902.

auf dem Wege des Tier- und Menschenversuchs die Ursache des Gießfiebers festzustellen suchte. Lehmann ist es allerdings bisher nicht gelungen, beim Tier trotz mannigfach geänderter Versuchsanordnung Gießfieber oder gießfieberähnliche Erscheinungen hervorzurufen; nur Kisskalt hat bei (3 von 10) Kaninchen nach subkutaner Einspritzung von Zinksulfat nach einer etwa halbtägigen Latenzzeit Temperaturerhöhung[1]) eintreten sehen, die er als Folge des einverleibten Metalls ansieht, und hat bemerkenswerte Analogien mit den Wirkungen der Quecksilber-, Kupfer- usw. Dampfeinatmung gefunden.

Besonders hervorzuheben sind die Gedankengänge Lehmanns über die möglichen Beziehungen des Gießfiebers zu einer bakteriellen Infektion von den Atmungswegen aus und über die Möglichkeit, daß Gießfieber — etwa ähnlich der Wirkung injizierten artfremden Eiweißes — infolge Resorption von Eiweiß entsteht, das durch das eingeatmete Zinkoxyd abgetöteten Bakterienleibern oder veränderten Epithelien der Luftwege entstammt. Nach diesem Erklärungsversuch Lehmanns würde also das Zink als feinst verteiltes Zinkoxyd nur mittelbar die Ursache des Gießfiebers sein; die Einatmung von Zinkdampf hält er auf Grund des negativen Ausfalls der Luftanalyse für ausgeschlossen.

Eigene Untersuchungen und eigene Versuche an Menschen und Tieren.

Durch Vermittelung der Gewerbeaufsichtsbeamten für den Landespolizeibezirk Berlin war es möglich, in den Jahren 1906 und 1911/12 verschiedene Gießereien in Berlin zu besichtigen, die nach ihrer Größe sowie den vorhandenen Ventilations- und Absaugvorrichtungen recht verschieden waren, und in einigen Betrieben Untersuchungen anzustellen. In diesen sieben Betrieben — sie lagen mit einer Ausnahme zu ebener Erde — waren Schmelzöfen und Gießplätze in einem und demselben Raum untergebracht; die unter starker Saugwirkung stehenden und mit schwerem Deckel abschließbaren Öfen waren zu ebener Erde, die Gußformen standen in der Mitte des Raumes. Die Schmelztiegel aus Graphit faßten bis zu 65 kg Messing; meist wurde unmittelbar aus ihnen in die Formen gegossen, bisweilen erst aus jenen in kleinere Gießgefäße geschöpft. Die Ventilation des Raumes wurde meist dauernd durch große Dachöffnungen und nach erfolgtem Guß durch Öffnen von Türen und Fenstern bewirkt; teils waren Ventilatoren angebracht. In einem großen Betrieb fand das Gießen unter stark abgesaugten Hauben (Exhaustoren) statt, von denen Röhren in den hohen Schornstein führten, aus dem man zinkoxydhaltigen Rauch entweichen sah. Die Schmelz- und Gießweise war im übrigen die allgemein übliche und bekannte. Einzelne dieser Gießräume waren so klein und niedrig und so gelegen, daß eine Belästigung der Umwohner, wenn sie bestünde, wohl sich hätte bemerkbar machen müssen.

Die Schmelz-, Gieß- und Hilfsarbeiten wurden nirgends von jugendlichen Arbeitern oder von Arbeiterinnen besorgt.

[1]) Die absoluten Zahlen sind in der Abhandlung leider nicht angegeben. Auch legt Kisskalt m. E. zu großen Wert auf die örtlichen Reizerscheinungen, die für Gießfieber nicht typisch sind.

Die Arbeiten im Gießraum vollzogen sich in der Regel so, daß zwei Arbeiter die Arbeiten an den Schmelzöfen (Einschütten des Materials in die Schmelztiegel) verrichteten, während zwei andere die Hilfsarbeiten (Heranschaffen des Koks, Bereitstellen und Auseinandernehmen der Formen usw.) besorgten. Beim Herausnehmen der Tiegel aus den Öfen sind beide Gruppen von Arbeitern tätig, ebenso beim Gießen. Beim Gießen von Messing verbreiteten sich — im Gegensatz zu dem von Neusilber — beim Öffnen der Ofendeckel starke Schwaden von Zinkoxyd, die noch zunahmen, wenn die flüssige Legierung in die Formen gegossen wurde. Ein Teil der Zinkoxydwolken wurde durch den Ventilator in die im Gießraum eingebauten Abzüge abgesaugt; doch flogen zahlreiche große und kleine Flöckchen des Zinkoxyds noch längere Zeit im Gießraum umher; bei stillstehendem Ventilator war es, als ob man im dichtesten Schneegestöber stünde. Zustände, wie sie in der Fachliteratur vereinzelt geschildert sind, daß man auf 2 m Entfernung Lampen durch die Gießwolken nicht hätte erkennen, auf einen Schritt nicht hätte sehen können oder daß die Gießer nach beendigtem Guß hätten ins Freie eilen müssen, herrschten — wohl als Folgen der Anordnungen des Preußischen Ministeriums für Handel und Gewerbe (s. S. 11) — nirgends. Die nach außen führende, für gewöhnlich geöffnete Türe wurde während des Gießens jedesmal geschlossen, um die Gießarbeit störenden Zug zu vermeiden. Die Arbeitszeit der vier Gießer dauerte von morgens $6^1/_2$ Uhr bis 5 Uhr nachmittags mit einer halbstündlichen Mittagspause; nachts wurde nirgends gegossen. Während die eine Gruppe den ganzen Tag über mit Metallgießen beschäftigt war, goß die zweite nur bis zur Mittagspause; nachmittags wurde sie zu anderen Arbeiten (Herrichten der Formen usw.), meist aber im Gießraum, verwendet. Der erste Guß erfolgte gewöhnlich $8^1/_2$ Uhr vormittags, der letzte 3 Uhr nachmittags. Bei vollem Betrieb wurden täglich 15 Tiegel Messing gegossen.

Es kam auch vor, daß während der Vormittagsstunden in dem hinteren Teil des Gießraums Rotguß gegossen wurde, doch drang das Zinkoxyd dabei nicht bis in den vorderen Teil des Raumes, in dem die Arbeiten des Messinggusses sich vollzogen.

Im übrigen sei auf Anlage 3 im Anhang verwiesen.

Die Arbeiter trugen während der Gießarbeit meist nur Hemd, Hose und Strümpfe und gingen in Holzpantoffeln. Während des Gießens schwitzten sie stark, tranken reichliche Mengen Flüssigkeit[1]), vielfach Milch, dünnen Kaffee, auch Lagerbier, aber kein kaltes Wasser in größeren Mengen. Geraucht wurde im Gießraum nicht. Irgend welche Vorsichtsmaßregeln gebrauchten die Arbeiter nicht; nur wendeten sie den Kopf nach Möglichkeit — soweit dies die Aufmerksamkeit beim Gießgeschäft zuließ — von den aus dem Gießtiegel aufsteigenden Gießdämpfen ab.

Temperaturmessungen der Luft, $1^1/_2$ m seitlich von den Öfen in Manneshöhe, ergaben Werte bis über 50° C.

Nach den von den Betriebsleitern gemachten Mitteilungen, nach den Erfahrungen der Gewerbeaufsichtsbeamten und nach dem Ergebnis der Befragung von Arbeitern

---

[1]) Trotzdem entleerten die Gießarbeiter nur sehr geringe Mengen konzentrierten, z. T. sedimentierenden Harn (s. später Tabelle 1). Der Arbeiter Sigels (s. S. 8/9) zeigte ähnliche Verhältnisse, desgl. Lehmanns Messinggießer beim Zinkverbrennen im Laboratorium.

wird in den besichtigten Betrieben das Gießfieber häufig und fast regelmäßig bei Neulingen, die Messing oder Neusilber gießen, beobachtet; nur in dem einen mit umfangreichen Absaugevorrichtungen versehenen Werk sollen solche Erkrankungen nicht vorkommen[1]). Verläßliche Angaben über die Häufigkeit konnten nicht gemacht werden, weil sie nicht zu Krankmeldungen führen. Bleibende Schädigungen sind nicht beobachtet worden. Diese Erfahrungen decken sich mit dem Ergebnis der von den preußischen Regierungs- und Gewerberäten früher (1895) mitgeteilten Erhebungen.

Im Laufe der Untersuchungen machten einzelne Arbeiter Angaben, daß sie das Gießfieber durchgemacht hätten. Einer gab an, an zwei aufeinander folgenden Tagen an dem Fieber mit den typischen Zeichen gelitten zu haben; am folgenden Tag konnte er jedesmal wieder arbeiten, da nur ein gewisses Gefühl der Müdigkeit zurückgeblieben war. Eine besondere Veranlassung für dieses an zwei Tagen hintereinander aufgetretene Gießfieber konnte nicht ausfindig gemacht werden. Weitere Angaben finden sich im Anhang, in der Anlage 3.

Die Arbeiter waren zwar sämtlich blaß, aber nicht auffällig anämisch, zeigten keine grüne Zahnlinie (Taylor, zitiert nach Hogben, Lewin); nur einige hatten leicht grüngefärbten Zahnstein. Grünfärbung der Haare wies keiner der Gießer auf. Mehrere Arbeiter waren schon lange Zeit im Gießbetrieb tätig. Die Umwohner waren nach den Erhebungen nirgends von Schädigungen durch Einatmen der Gießdämpfe enthaltenden Luft betroffen worden.

Um ein Bild über den Ablauf des Fiebers auf Grund eigener Beobachtungen und möglichst von Selbstversuchen zu erhalten, wurden zunächst fünf gesunde Personen gewonnen, die bereit waren, sich mit dem Verfasser und meinem inzwischen verstorbenen Mitarbeiter, Reg.-Rat Dr. Franz, an den Versuchen zu beteiligen.

Die Zeit, während der die Versuchspersonen sich im Gießraum, in mehr oder weniger großer Nähe der Gießer während des Gießens von Messing[2]) aufhielten, betrug etwa ½ Stunde in der Zeit zwischen 11 und 12 Uhr vormittags. Von den sieben Personen erkrankten nur fünf, und auch nur einige von ihnen typisch; die anderen zwei unterlagen, obwohl sie die Gießdämpfe in besonders ausgedehntem Maße und aus möglichster Nähe einzuatmen suchten, der Einwirkung der Dämpfe überhaupt nicht. Die fünf erkrankten Personen wiesen die ersten deutlichen Anzeichen des Fieberanfalls nach etwa 6—8 Stunden, während deren sie ihrer gewohnten Beschäftigung nachgegangen waren und sich wohlgefühlt hatten, auf, so daß nach keiner Richtung hin der am Abend des Versuchstags erfolgte Ausbruch der Erkrankung vorauszusehen war. Die Erkrankung setzte nach der mehrstündigen Latenzzeit fast unvermittelt[3]) ein und glich in den ausgesprochenen Fällen, besonders beim Verfasser, etwa dem plötzlichen Beginn einer schweren Influenza; sie leitete sich mit den subjektiven Zeichen des beginnenden Fiebers (Frösteln, Schwere der Beine

[1]) Vergl. die Angabe Hohmanns und Lehmanns über das neue Messinggießwerk der Carl Zeiß-Werke in Jena.

[2]) 67 Teile Kupfer und 33 Teile Zink, unter Verwendung von etwa ⅔ alten Messings. Meist geringer Zusatz von Phosphorkupfer.

[3]) Vorboten konnten in unseren Versuchen, entgegen Erbens Mitteilung, niemals festgestellt werden.

und allgemeine Mattigkeit) ein und steigerte sich rasch und fast regelmäßig zu einem ausgesprochenen Schüttelfrost. Während dieses Anfangsstadiums waren bisweilen Reizungen von seiten der Atmungsorgane, Hustenreiz, Atemnot usw., auch Klopfen der Schläfenarterien und leichter Kopfschmerz vorhanden; auch stellte sich Appetitverlust ein, während Übelkeit oder Erbrechen in keinem Falle zur Beobachtung kamen. Die eine Versuchsperson verspürte einen süßen Geschmack im Munde. Das Frösteln und der Schüttelfrost zwangen die Versuchspersonen, sich ins Bett zu legen; nach einiger Zeit des Wachens oder des Schlafes stellte sich ein Stadium des Hitzegefühls mit Schweißausbruch ein. Mit diesem der kritischen Entfieberung bei akuten Infektionskrankheiten ähnelnden Schweißausbruch war das eigentliche Gießfieber beendet. Die Nacht konnte schlafend verbracht werden; am nächsten Morgen war es den Versuchspersonen ohne Ausnahme möglich, der gewohnten Arbeit wieder nachzugehen, ohne daß sich an diesem Tag oder in der Folgezeit irgendwelche bedenkliche Nachwirkungen zeigten. Verfasser bemerkte nur am ersten Tag noch eine leichte Erregbarkeit des Gefäßsystems: wiederholt trat schon beim Sprechen Schweißbildung auf der Stirn ein.

Die während des Fieberanfalls angestellten Beobachtungen ergaben bei zwei Personen eine geringe Erhöhung der Körpertemperatur bis auf 38,6 und 38,8° C, bei einer eine Steigerung der Pulszahl bis auf 96. Von zwei Personen ist der während des Fieberanfalls und nach demselben entleerte Harn untersucht und frei von Eiweiß und geformten Bestandteilen befunden worden.

Alles Nähere ergibt sich aus den im Anhang in Anlage 1 abgedruckten Versuchsaufzeichnungen.

Einige Jahre später, bei Wiederaufnahme der Untersuchungen, erkrankte Dr. Franz, auch seinerseits, in typischer Weise. Er hatte die Dämpfe von 8 Messinggüssen (37 % Zink) möglichst ausgiebig eingeatmet. Der Gießfieberanfall war ziemlich stark; die Brustschmerzen waren beträchtlich, die Temperatur stieg bei ihm bis 39,8° und hielt sich längere Zeit auf 39,4° C, desgleichen steigerte sich die Pulszahl. Kältestadium, Schüttelfrost sehr charakteristisch; allgemeiner, aber nicht sehr reichlicher Schweiß[1]. Der Befallene fühlte sich am nächsten Tag noch matt und war erst am übernächsten Tag wieder hergestellt. Der Harn enthielt am Versuchstag 2,7 mg, am darauffolgenden Tag 2,0 mg Zn (bei 0,4 und 0,8 mg Cu); der Kot beider Tage wies zusammen 6,6 mg Zn (und 5,2 mg Cu) auf. Das Nähere ergibt sich aus den Versuchsaufzeichnungen im Anhang (Anl. 2) und aus der nachfolgenden Tabelle 1 (S. 24).

Im übrigen gelang es nicht, Gießfieber zu erzeugen. Verfasser blieb diesmal vom Gießfieber unberührt, obwohl er verschiedene Male so sehr als möglich sich bemühte, es zu erlangen; Diener A erkrankte überhaupt nicht. Bei den einzelnen Versuchspersonen war zwar hier und da das eine oder andere Anzeichen vorhanden, niemals aber die Abgeschlagenheit, das Kältestadium mit dem Schüttelfrost, der Schweiß und die Temperaturerhöhung. Es blieb diese Reaktion selbst dann aus, wenn mehrere Güsse mitgemacht wurden, wenn der Ventilator abgestellt war und intensiv

[1]) Auch Arnstein beobachtete bei seinen Versuchspersonen keine profusen Schweiße.

durch den Mund geatmet wurde. Die Versuche, bei denen die Dämpfe nur eines einzigen Gusses eingeatmet wurden, oder Metallegierungen mit hohem und mit niedrigem Zinkgehalt gegossen wurden, oder das Atmen mit geöffnetem Mund unterblieb, sind später zu besprechen.

Beim Gießen von Neusilber (mit 16—24% Zink neben 15% Nickel) erlitt keine von den Versuchspersonen Gießfieber, wie die Anl. 3 im Anhang dartut. Es ist bemerkenswert, daß das Fieber, wenn es überhaupt sich einstellte, nur eintrat, wenn minderwertiges, d. h. viel Zink enthaltendes Messing gegossen wurde.

Die bei allen diesen Versuchen gesammelten Erfahrungen lehren, daß das Gießfieber auch bei den vorliegenden Beobachtungen und den jetzigen gewerbehygienischen Bedingungen sich nach Beginn, Verlauf des Fiebers, Begleiterscheinungen und Krise als eine akute[1]) Erkrankung typischen Gepräges gezeigt hat. Die örtlichen Reizerscheinungen auf die Atmungsorgane sind verschieden stark ausgebildet, hängen aber einerseits von den Bedingungen beim Gießen, der Dampf- und Staubentwicklung und andererseits von der Empfindlichkeit der Personen ab. Das Gießfieber trat bei den Empfänglichen nach einer Latenzzeit von mehreren Stunden ein, infolge der gegen Mittag erfolgenden Aufnahme der Gießdämpfe gegen Abend, so daß sich der Anfall am Abend und in der Nacht abspielte. Der Beginn erinnerte deutlich an die für Influenza kennzeichnenden Erscheinungen, Frösteln, Fiebern und Gefühl des Zerschlagenseins, Mattigkeit bis fast zum Versagen der Kniegelenke. Das Froststadium steigerte sich zum regelrechten Schüttelfrost, der bisweilen so stark war, daß der Befallene sich nur mit Mühe allein ins Bett begeben konnte. Im Fieberstadium stieg unter begleitender Pulsbeschleunigung die Körpertemperatur bis 39,4°, dem das Schweiß- und Entfieberungsstadium folgte, ähnlich der Krisis bei manchen Infektionskrankheiten. Wenn auch in den meisten Fällen bereits am nächsten Tag der Anfall so gut wie vollständig überwunden war, so war er doch in dem einen Fall nicht so schnell abgeklungen, daß man daß Gießfieber unter allen Umständen für völlig harmlos bezeichnen darf.

Für die Beantwortung der Frage nach der Ursache des Gießfiebers lehren diese Versuche, daß nicht jede Kupferzinklegierung die Vorbedingungen zu seiner Entstehung schafft, sondern in erster Linie die zinkreichste des Messings; jedenfalls war es weder nach dem Gießen von Neusilber und Rotguß noch nach dem Gießen zinkarmer Messingsorten entstanden, so daß auch nach diesen Beobachtungen dem Zink in den Gießdämpfen eine wesentliche Bedeutung zugesprochen werden muß.

Auch geht aus diesen Beobachtungen erneut hervor, daß das Krankheitsbild zwar einer auf einige Stunden zusammengedrängten Infektionskrankheit ähnelt, aber doch durchaus im Sinne einer rasch ablaufenden Vergiftung sich abspielt; freilich kann nach seinem klinischen Bild das Gießfieber nicht ohne weiteres auf einen bestimmten chemischen Stoff als Ursache[2]) bezogen werden.

---

[1]) Von einem akuten Ausdruck einer chronischen Erkrankung, wie Simon meint, kann keine Rede sein.

[2]) Eulenberg (S. 690) analysierte die Vergiftungserscheinungen folgendermaßen: Heftige choleraartige Erscheinungen sprechen für arsenikalische Dämpfe, sehr hartnäckiges Erbrechen läßt die Beimengung von Kadmiumdämpfen vermuten; bleibende Paresen deuten auf Blei, während das Zinkfieber mit dem Aufhören der Messingdämpfe schnell schwindet.

Erst nach einer bestimmten, stundenlangen Latenzzeit auftretende Vergiftungen mit Störungen des Kreislaufs, des Vasomotorenzentrums und der Wärmeregulation sind nach gas- und dampfförmigen Blutgiften, wie dem Arsenwasserstoff, den nitrosen Gasen, sonstigen Blutgiften z. B. dem vom Magendarm aus hämolytisch wirkenden Gift (Helvellasäure) der Speiselorchel, Helvella esculenta[1]) bekannt; auch weist das Gießfieber Züge auf, die die Vergiftung mit Nickelcarbonyl zeigt, nach dem einige Stunden nach der Beschäftigung Unbehagen, subjektive Fiebererscheinungen, Kurzatmigkeit und Mattigkeit aufgetreten sind. Die beim Gießfieber beobachteten Symptome sind nicht die des Zinkoxyds, das früher ein in großem Umfang angewandtes Antiepileptikum war und dessen Giftwirkungen aus zahlreichen Beobachtungen bekannt sind.

Es ist deshalb verständlich, wenn schon frühzeitig als Ursache nicht das Zinkoxyd[2]), sondern besonders durch Sigel die Dämpfe des metallischen Zinks[3]) oder Verunreinigungen, entweder Bestandteile des Messings (Arsen, Blei, Kobalt, Phosphor) oder aus den Formen stammende Verunreinigungen (Kohlenoxyd, das aber wesentlich andere Vergiftungserscheinungen macht) oder flüchtige Metallverbindungen, etwa sich bildendes Zinkcarbonyl, beschuldigt worden sind[4]). Im übrigen ist bald das Zink, bald das Kupfer, bald das Messing für die Entstehung des Gießfiebers, und zwar noch neuerdings[5]), verantwortlich gemacht worden[6]). Die erste diesbezügliche genaue Angabe stammt von Blandet, der 1845 mit Bestimmtheit sich dahin aussprach, daß die bei der hohen Schmelztemperatur des Kupfers entstehenden Zinkdämpfe, die eine kleine Menge Kupfer enthalten, sich beim Kontakt mit der Luft oxydieren und daß das Zink unter dieser so feinverteilten Form des Zinkoxyds mit der Atemluft in die Lunge gelangt. Andere haben verschlucktes Zinkoxyd für das Entstehen des Gießfiebers verantwortlich gemacht; Sigel hält es für wahrscheinlich, daß in der Praxis beide Wege eine Rolle spielen.

Des näheren braucht nicht darauf eingegangen zu werden, seitdem insbesondere durch Sigel[7]) als festgestellt gelten darf, daß in Zinkgießereien nach dem Über-

[1]) Wie ich mich in eigenen Versuchen wiederholt überzeugen konnte.

[2]) Nur Hugo Schulz schildert nach der Einnahme von Zinkoxyd eigentümliche Störungen im Gefühl der Körpertemperatur, die sehr an das Gießfieber erinnern sollen. (Unorganische Arzneistoffe 1907, S. 283). — Wer aber jemals einen typischen Anfall von Gießfieber mit dem Gefühl der Zerschlagenheit, Schüttelfrost nud Schweißausbruch durchgemacht hat, wird nicht von bloßen Störungen im Gefühl der Körpertemperatur sprechen.

[3]) Mit Recht weist Helpup darauf hin, daß von einer echten Zinkvergiftung durch Zinkdämpfe nur geredet werden dürfe, wenn man mit den Dämpfen des chemisch reinen Zinks rechnen könne; diese Bedingung hat Lehmann bei seinen Versuchen mit verbrennendem Zink erfüllt.

[4]) Kisskalt.

[5]) So z. B. das Kupfer in den Berichten der Gew.-Aufsichtsbeamten in Württemberg.

[6]) Für die Bemerkung Tracinskis, Hohmanns und Lehmanns (3), daß früher auch Kadmium als Ursache des Gießfiebers beschuldigt worden sei, habe ich Unterlagen in der Literatur nicht finden können. In der französischen Literatur ist Zinkoxyd als Cadmie bezeichnet und ein Unterschied zwischen der Zinkoxydvergiftung (intoxication cadmique) und der Zinkvergiftung (intoxication zincale) gemacht worden.

[7]) Sigel berichtet, daß in drei namhaft gemachten württembergischen Betrieben reines Zinkfieber heftig aufgetreten sei; selbst beobachtet hat er solche Erkrankungen in Zinkgießereien allerdings nicht.

hitzen unvermischten Zinks Gießfieber in heftigen Anfällen aufgetreten ist und es K. B. Lehmann (2 und 3) — womit der Beweis einwandsfrei erbracht ist — glückte, an einem Arbeiter, der das Gießfieber im Messinggießbetrieb wiederholt durchgemacht hatte, und an seinen Mitarbeitern durch die Dämpfe des chemisch reinen Zinks dieses Fieber im Laboratoriumsversuch zu erzeugen. Hiernach muß es also das Zink in Form seines Oxydationsprodukts, als organische Verbindung oder als Metalldampf[1]) sein, das unmittelbar oder mittelbar (s. S. 14) (Lehmann) das Gießfieber hervorruft.

Ebenso frühzeitig, wie Blandet das Gießfieber als Zinkfieber bezeichnete, ist die Vermutung aufgestellt worden, es könnte der Arsengehalt des Handelszinks zum mindesten Mitursache seines Entstehens (Reboulleau) sein. Nachdem Bouchut und Chevallier vereinzelt im Zinkoxydstaub der Gießräume Arsen in kleinen Mengen nachgewiesen hatten, ist die Vermutung wiederholt erörtert worden, ob und inwieweit Arsen bei der Entstehung des Gießfiebers ursächlich beteiligt sein könnte, zuletzt noch in Nr. 4 der Concordia vom 15. Februar 1905.

Es wurden deshalb auch im Chemischen Laboratorium des Gesundheitsamts durch Geh. Regierungsrat Dr. K. Beck einige chemische Untersuchungen der Gießdämpfe und des Flugstaubs von Gießereien angestellt, die in erster Linie nachweisen sollten, ob die Gießdämpfe Arsenverbindungen und Kohlenoxyd, frei oder gebunden, enthielten. Nach dieser in Nachfolgendem beschriebenen Untersuchung Becks mit je 300 l Gießdämpfen waren in zwei Berliner Betrieben an fünf verschiedenen Gießtagen die Gießdämpfe, die sowohl aus der unmittelbaren Nähe der Formen als auch von dem Standort der Gießer entnommen worden waren, frei von Arsenverbindungen.

Ebensowenig konnte in der Luft des Gießraumes, sowohl in der Nähe des Tiegels und der Gießformen, als auch an seiner Decke Kohlenoxyd nachgewiesen werden, obwohl es sich beim Eingießen des Messings in die aus Holz bestehenden und mit Kohle und anderen brennbaren Materialien hergerichteten Gießformen entwickelt und an bläulichen Flämmchen an den Spalten der Gießformen erkennbar ist[2]). Für die Annahme einer etwaigen Zinkcarbonylverbindung konnte ein Beweis durch die chemische Analyse jedenfalls nicht erbracht werden. Auch metallisches Zink ließ sich in den Zinkdämpfen nicht nachweisen, wie auch Lehmann und Arnstein kein unoxydiertes Zink auffinden konnten. Lehmann[3]) fand weder über erwärmtem noch über verbrennendem Zink Dämpfe von metallischem Zink, so daß er in dem feinst verteilten Zinkoxyd die wahrscheinlichste Ursache des Gießfiebers sieht.

Der Zinkoxydgehalt der Gießdämpfe ist bekannt. Bei Verflüchtigung von Zink aus reinem Metall ohne Kupferzumischung enthielt in Lehmanns Versuchen die

---

[1]) Sigel spricht von Zinkstaub, zu dem sich die metallischen Zinkdämpfe an der Luft kondensieren, d. h. einem äußerst feinen, metallischen Pulver, das neben metallischem Zink Spuren von Zinkoxyd enthält.

[2]) Sigel fand in seinem Blut während eines Gießfieberanfalls spektroskopisch kein Kohlenoxyd (s. S. 7).

[3]) Lehmann konnte im aufgefangenen Zinkoxyd auch kein Superoxyd nachweisen.

Zimmerluft über dem Tiegel 0,124 bis 0,42 mg Zn als ZnO in 1 l. Arnstein ermittelte in 1 l 0,23 mg ZnO. Lehmann und seine Versuchspersonen atmeten bei den Zinkversuchen im Laboratorium im ganzen 30—150 mg Zn, die von Arnstein beschriebenen Arbeiter einer Messinggießerei 6—794 mg Zn ein. Da schon nach der Teilnahme an einem einzigen Messingguß, der teils 10 Minuten (Lehmann), teils 5 Minuten (Arnstein) dauerte und wobei im letzteren Fall mit 30 l Luft etwa 7 mg ZnO zur Einatmung kamen, Gießfieber[1]) beobachtet worden ist, genügt anscheinend diese kleine Menge, um Gießfieber zu erzeugen. Durch eine solche Feststellung wird die Lösung des Problems, den Mechanismus dieser interessanten Erkrankung aufzuklären, nur noch erschwert. Beck ermittelte im Flugstaub nur geringe Mengen Kupfer; auch wir fanden im Flugstaub eines anderen Betriebs nur etwa 1 % Kupfer neben etwa 16 % Zink[2]).

Auch nach vorliegenden Beobachtungen ist die Aufnahme von Zink als die wahrscheinliche Ursache des Gießfiebers anzusehen; doch kann Lehmann vorerst nicht beigetreten werden, der in dem feinstverteilten Zinkoxyd die mittelbare Ursache (s. S. 14) erblickt. Es spricht vieles dafür, daß es doch die Zinkdämpfe sind, die die Vergiftung hervorrufen, wenn auch die chemische Analyse der Gießdämpfe im Stich gelassen hat (Influenzaartige akute Erkrankung nach Kupferdämpfen, Hansen; Metalldampf-Inhalationskrankheiten Kisskalts; Analogie mit den nach Latenzzeit wirkenden gasförmigen Blutgiften).

Zur Aufklärung der Entstehung des Gießfiebers wurden von mir einerseits einige Tierversuche angestellt, andererseits ausgedehnte Harn- und Kotuntersuchungen von Arbeitern und sonstigen Personen, die den Guß besorgt oder daran teilgenommen hatten, auf den Gehalt an Zink unternommen; diese Untersuchungen wurden auch auf Tiere ausgedehnt, die in Gießräume verbracht waren.

Bei den im Laboratorium angestellten orientierenden Tierversuchen, die in Gemeinschaft mit Herrn Geheimen Regierungsrat Dr. Beck angestellt wurden, kamen zur Verwendung einerseits Messing, andererseits Zink. In einem elektrisch geheizten Tiegel wurden die chemisch reinen Metalle zum Schmelzen gebracht. Kupfer und Zink wurden im Verhältnis $^2/_3$ zu $^1/_3$ verwendet; um dies möglichst aufrecht zu erhalten, wurde das sich verflüchtigende Zink durch nachgefügtes reines Metall ersetzt. Die entstehenden Dämpfe, die reichliche Mengen Zinkoxyd enthielten, wurden mit einem großen Glastrichter aufgefangen und durch einen gläsernen Apparat[3]), in dem sich die Versuchstiere befanden und beobachtet werden konnten, hindurchgesaugt.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen, Meerschweinchen, Mäuse, Tauben und

[1]) Ein durchaus typisches Bild boten allerdings diese Erkrankungen nicht, es stellte sich wohl Temperaturerhöhung ein, es fehlten aber die starke Prostration, der Schüttelfrost und die profusen Schweiße.

[2]) Blandet (2) gibt an, daß etwa 2 % Kupfer in dem Flugstaub nachgewiesen worden seien. Die Württembergische Zentralstelle ermittelte in Flugstaub, wie er in Messinggießereien umherliegt, Eisen, Kupfer und Spuren von Zink. Sigel fand darin überhaupt kein Kupfer. Der Flugstaub in Messinggießereien kann also ganz verschieden zusammengesetzt sein.

[3]) Der hierzu im Physiol.-pharmak. Laboratorium zur Verfügung stehende Apparat besteht aus zwei gläsernen, tubulierten länglichen Halbkugeln von je etwa 100 l Inhalt.

Kanarienvögel. Die Zeit, während der die Tiere gezwungen waren, Gießdämpfe bei 25—28° einzuatmen, betrug bei den einzelnen Versuchen 45 Minuten bis 1¾ Stunden, im allgemeinen etwa 1 Stunde. Bei keinem der Tiere sind Vergiftungserscheinungen eingetreten, weder unmittelbar noch nach Stunden; bei den Kaninchen und Meerschweinchen vorgenommene Temperaturmessungen ergaben keine vom normalen Befund abweichenden Werte[1]). Die spektroskopische Untersuchung des Blutes von Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben führte gleichfalls zu negativen Resultaten. Auch die mit denselben Tieren nach kürzeren Zeiträumen wiederholten Versuche verliefen ohne Auftreten von Vergiftungserscheinungen. Die verwendeten Säugetiere zeigten nur hin und wieder Atembeschwerden mäßigen Grades; die Vögel dagegen litten unter lebhaften Atmungsstörungen und gingen entweder nach Beendigung des Versuchs oder mehrere Stunden später ein. Die verwendeten Versuchstiere müssen wohl als unempfänglich bezeichnet werden; Versuche an Affen unterblieben[2]). Somit haben diese Versuche, am Tier experimentell durch Gießdämpfe Vergiftungserscheinungen hervorzurufen, die als dem Gießfieber analog gedeutet werden könnten, ebenso wie die K. B. Lehmanns nicht zu einem Erfolg geführt.

Den Versuchen, die Ursache des Gießfiebers durch Untersuchung der Ausscheidungen (Stuhlgang und Harn) von Menschen und Tieren ausfindig zu machen, die sich in Gießräumen während des Gießens von Messing aufgehalten hatten, stellte sich eine ganz unerwartete Schwierigkeit entgegen.

Nach dem bisherigen Stande der Wissenschaft war man anzunehmen berechtigt, daß die bei der Untersuchung der Ausscheidungen von Gießarbeitern auf Zink und Kupfer erhaltenen Metallmengen mit den Gießdämpfen aufgenommen waren. Wie in der vorausgehenden Abhandlung von Rost und Weitzel des näheren ausgeführt ist, haben verschiedene Autoren aus dem Zinkgehalt des Harns (von Lehmann und von Seiffert auch quantitativ[3]) ermittelt) und des Kots (nur von Arnstein und zwar qualitativ nachgewiesen) einen Rückschluß auf das beim Gießen oder in Zinkhütten aufgenommene Zink (Sigel[4]), Arnstein, Lehmann, Seiffert) gemacht und den Befund zur Aufklärung der Ursache des Gießfiebers (Lehmann) und des Zinkhütten-

---

[1]) Bekanntlich schwanken die normalen Temperaturen des Kaninchens, gemessen 12 cm tief im Rektum, beträchtlich; sie liegen meist über 38,5 und können bis 40° betragen (vergl. auch Rost, Über die Wirkungen der Borsäure usw. Diese Arb. Bd. 19, 1902, S. 68 ff.).

[2]) K. B. Lehmann hat sich diese ausdrücklich vorbehalten.

[3]) In den sieben Versuchen Arnsteins an vier Personen (Nichtarbeitern im Alter von 21—37 Jahren) zeigte sich:

	Stuhl	Harn
Versuch 1	Zink-Reaktion stark	Zinkfrei (24stündig)
„ 2	Zn in Spuren	Zn in Spuren (24stündig, 1050 ccm)
„ 3	Zn in Spuren deutlich (3tägig)	Zinkfrei
„ 4	Zn in Spuren deutlich (2tägig)	Kein Zn
„ 5	—	—
„ 6	Zink-Reaktion deutlich (3tägig)	Kein Zn (3tägig)
„ 7	—	—

[4]) Sigel schreibt: Da nach dem Gießen mehrfach, wenn auch nicht regelmäßig, deutliche Spuren Zink im Urin nachgewiesen werden konnten, scheint mir der Beweis mit genügender Schärfe erbracht zu sein, daß wir es beim Gießfieber mit einer akuten Zinkvergiftung zu tun haben.

siechtums (Seiffert) verwendet. Zadek empfiehlt im Hinblick auf die von Sigel nachgewiesene Ausscheidung des Zinks durch die Nieren[1]) die Darreichung von Diureticis und zur Entscheidung, ob das Zinkhüttensiechtum auf Zink zurückzuführen ist, den Harn auf das Vorhandensein von Zink zu untersuchen; Seiffert hat die Tatsache, daß der Harn seiner Arbeiter Zink enthielt, als eine der Stützen für seine Annahme, daß das Zinkhüttensiechtum durch Zink veranlaßt sei, tatsächlich verwendet.

Es war ein Versuchsplan aufgestellt worden, nach dem folgenden Fragen experimentell näher getreten werden sollte:

1. Geht das Auftreten des Gießfiebers parallel der Aufnahme von Zink in den Organismus, so daß nur bei solchen Personen das Fieber sich einstellt, in deren Organismus Zink übergetreten ist, während die vom Gießfieber nicht befallenen Arbeiter kein Zink im Organismus aufweisen? Bejahendenfalls würde sich aus der Untersuchung des Harns ein Rückschluß auf das Eintreten eines Gießfieberanfalls oder auf die Disposition dazu machen lassen?

2. Welcher Zinkgehalt der Metallegierung ist erforderlich, um Gießfieber zu erzeugen?

3. Läßt sich bei Tieren eine Vergiftung erzeugen, wenn sie, gegebenenfalls nach Tracheotomie, den Gießdämpfen nahe der Gießstelle ausgesetzt werden, und wie verhält sich der Darminhalt und der Harn hinsichtlich des Zinkgehalts?

Es war also beabsichtigt, den Harn und den Kot von Arbeitern, die beim Messinggießen kürzere oder längere Zeit beschäftigt und teils vom Gießfieber befallen waren, und ebenso die Ausscheidungen von einem oder mehreren Arbeitern vor der erstmaligen Beschäftigung im Gießraum und an den ersten Tagen der Gießtätigkeit auf Zink zu untersuchen. Trotz der Unterstützung der Gewerbeinspektoren gelang es nicht, die für die Untersuchung dieser Sonderfragen erforderlichen Arbeiter zu erlangen.

Die Versuche wurden in den Jahren 1911 und 1912 angestellt.

Zunächst nahmen Verfasser und Dr. Franz an dem Gießen von Neusilber und Rotguß teil.

Bei keiner der Versuchspersonen stellte sich nach der Beschreibung im Anhang (Anlage 3) Gießfieber ein. Die Arbeiter blieben ebenfalls frei von Gießfieber.

Sodann wurden Versuche mit dem Gießen von Messing, Neusilber und Rotguß ausgeführt, wobei teils an einem Tag, teils an zwei aufeinander folgenden Tagen man sich den Gießdämpfen aussetzte. Einmal wurde auch der Einfluß der Einatmung der Dämpfe eines einzigen Gusses geprüft.

Wie sich aus der Tabelle 1 (S. 24) ergibt, enthielten durchweg die Harne[2]) der Arbeiter und Versuchspersonen Zink[3]) im Höchstgehalt 4,4 mg (in 440 ccm kon-

---

[1]) Hogben gibt irrtümlicherweise an, Zink werde rasch aus dem Körper ausgeschieden.

[2]) Der Harn der Gießarbeiter war — wie die Tab. 1 zeigt — an Menge gering, konzentriert, von hohem spez. Gewicht und meist dunkel gefärbt (vergl. auch Arnstein und Lehmann).

[3]) Über die Methode der quantitativen Bestimmung von Zink und Kupfer vergl. Weitzel, Diese Arb. Bd. 51, 1919, S. 476.

Tabelle 1.

Übersicht über die Mengen Zink und Kupfer, die im Stuhlgang und im Harn von Gießarbeitern und Versuchspersonen beim Gießen von Messing, Neusilber und Rotguß gefunden worden sind.

I. Gießen von Messing (Zinkgehalt: 37 %).

a) bei Aufenthalt im Gießraum an einem Tag (8. Juli 1911)

Versuchsperson	Dauer des Aufenthalts im Gießraum. Zahl der Güsse.	Menge des Kots g	Menge des Harns ccm	Menge Zink (Zn) im Stuhlgang mg	Menge Zink (Zn) im Harn mg	Menge Kupfer (Cu) im Stuhlgang mg	Menge Kupfer (Cu) im Harn mg	Ist Gießfieber eingetreten? Sonstige Bemerkungen
1. Arbeiter P.	Arbeitstag: 15 G.	184	} 285	28,3	} 2,5	3,8	} 0,25	Nein
2. „ G.	„	—		—		—		Unbestimmte Krankheitszeichen (s. Anlage 3)
3. „ U.	halb. Arbeitstg.: 5—6 G.	124	920	13,6	2,7	1,6	0,4	Nein
4. „ H.	„	—	520	—	3,5	—	0,3	Nein
5. Dr. Fr. 1. Tg.	5 1/4 Stunden: 8 G.	} 170	1150	} 6,6	2,7	} 5,2	0,4	Typisches Gießfieber (s. Anlage 2)
2. „			780		2,0		0,8	
6. Dr. R.	20 Minuten: 3 G.	38,5 tr.	1300	15,4	1,3	3,2	nicht nachzuw	Nein
7. Dr. R. 1. Tg.	15 „ 1 G.	—	1350	11,6	1,2	0,6	0,7	Nein
2. „		—	—	18,6	—	2,0	—	
3. „		—	—	4,6	—	1,2	—	

b) bei Aufenthalt im Gießraum an zwei aufeinander folgenden Tagen (1/2. August 1911)

Versuchsperson	Dauer / Zahl der Güsse	Kots g	Harns ccm	Zn Stuhlgang mg	Zn Harn mg	Cu Stuhlgang mg	Cu Harn mg	Bemerkungen
8. Arbeiter P.	Arbeitstag: 15 G.	47	440	4,3	4,4	1,1	0,3	Nein
9. „ G.	„	185	520	15,7	3,4	0,5	0,6	Nein

II. Gießen von Neusilber (Zinkgehalt: 16 %) und Rotguß (Zinkgehalt: 9—10 %)

a) bei Aufenthalt an zwei aufeinander folgenden Tagen (1/2. August 1911)

Versuchsperson	Dauer / Zahl der Güsse	Kots g	Harns ccm	Zn Stuhlgang mg	Zn Harn mg	Cu Stuhlgang mg	Cu Harn mg	Bemerkungen
10. Arbeiter U.	halber Arbeitstag: 5 G.	85	860	7,7	4,4	2,1	0,5	Nein
11. „ H.	„	120	1500	18,2	3,2	3,4	0,6	Nein

b) bei Aufenthalt an einem Tag (22. August 1911)

Versuchsperson	Dauer / Zahl der Güsse	Kots g	Harns ccm	Zn Stuhlgang mg	Zn Harn mg	Cu Stuhlgang mg	Cu Harn mg	Bemerkungen
12. Arbeiter P.	Arbeitstag: 15 G. (Neusilber)	43	465	9,6	3,3	1,2	Spur	
13. „ G.	Arbeitstag: 15 G. (Neusilber)	228	145	22,6	1,7	2,6	0,4	
14. „ U.	halber Arbeitstag: 5 G. (Rotguß)	326	475	21,5	0,6	3,2	Spur	
15. „ H.	halber Arbeitstag: 5 G. (Rotguß)	250	350	21,2	2,2	1,2	0,8	Nein
16. Dr. Fr.	halber Arbeitstag: 7 G. (5 Neusilber, 2 Rotguß)	122	1320 (29 Std.)	11,2	1,7	2,4	0,4	2 1/2—3 m von den Gießern entfernt stehend
17. Diener A.	halber Arbeitstag: 2 G. (Neusilber)	190	350	13,7	Spur	2,0	Spur	Dicht bei den Gießern stehend

Spezifische Gewichte der Harne der vier Arbeiter und des Dr. Fr. (Nr. 12—16) vom 22. August 1911.

Harn von	erste Portion	zweite und dritte Portion zusammen	Mischharn	Gesamtmenge ccm
P.	1,019	1,022	1,023	(465)
G.	Menge zu wenig	1,029	1,030	(145)
U.	1,020	1,024	1,024	(475)
H.	1,029	—	1,028	(350)
Dr. Fr.	(Harn von vorm. 10 Uhr bis nachm. 3/4 5 Uhr)		1,026	(1320)

zentriertem Harn). Bei näherer Betrachtung ergibt sich anscheinend als Regelmäßigkeit, daß die höchsten Zinkwerte im Harn bei Arbeitern, die gewohnheitsmäßig Zink aufnehmen, anzutreffen sind, während die gelegentlich Messingdämpfe einatmenden Personen nur Mengen zwischen 1,2 und 2,7 mg Zink enthielten. Bei Besprechung der späteren Tab. 2 wird sich aber zeigen, daß auch bei solchen Personen sogar an dem dem Gießtag folgenden Tag 3,4 mg im Harn sich fanden, die nur vorübergehend an einem Tag sich im Gießraum aufhielten. Ein wesentlicher Unterschied bestand nicht, je nachdem ob Messing, an einem oder zwei Tagen, oder ob Neusilber und Rotguß hergestellt wurde. Auch waren die Harnzinkzahlen bei Dr. Franz zur Zeit des Gießfiebers (Tab. 1, Nr. 5) keineswegs besonders hoch, nur läßt sich sagen, daß die Gießarbeiter während der Aufnahme von Gießdämpfen wohl regelmäßig Zink in ziffernmäßig bestimmbaren Mengen enthalten, während es (Rost und Weitzel) ohne Zinkaufnahme nur dann möglich war, Zink in Mengen bis höchstens 2 mg zu bestimmen, wenn Harnmengen von 1500 ccm verarbeitet wurden.

Ein wesentlich anderes Bild zeigen die in den Koten gefundenen Zinkwerte. Abgesehen von einer Zahl (3,3 mg) sind selbst die niedrigsten Kotzinkwerte höher als die höchsten des Harns; sie betragen 4,3 bis zu 22,6, einmal sogar bis zu 28,3 mg. Es machte keinen Unterschied, ob ein- oder zweitägig gegossen wurde, ob die Metallkomposition zinkreich oder arm an diesem Metall war, ob man an mehreren Güssen oder nur an einem teilnahm. Weder im Kot noch im Harn (2 tägig) fanden sich besonders hohe Mengen Zink, als die Versuchsperson ein schweres Gießfieber durchmachte (2,7 und 2,0 im Harn, 3,3 mg im Kot). Sehr niedrige Zahlen (4,3 und 7,7 mg Zn) fanden sich im Kot der Arbeiter, die an zwei aufeinander folgenden Tagen Messing umgossen, sehr hohe Zahlen (21,5 und 22,6 mg) bei der Herstellung von zinkarmen Legierungen (Neusilber) und ebenfalls noch hohe Zahlen bei dem Verfasser, als er einmal nur an einem Messingguß von sechs Minuten (Tab. 1, Nr. 7) teilnahm. Bei Annahme eines Zinkgehalts von 0,3 mg im Liter würden während 15 Minuten Aufenthalt im Gießraum $6 \times 0,5 \times 15 \times 0,3 = 40$ mg Zn aufgenommen worden sein. Da während drei Tagen im Kot und Harn im ganzen 36,0 mg ausgeschieden wurden, so kann keinesfalls die ganze Menge zur Ausscheidung gelangt sein, da Werte für den normalen Zinkgehalt dieser Ausscheidungen vorliegen.

Die elektrolytische Bestimmung des Kupfers ergab, daß ähnliche Verhältnisse mit nur kleineren Werten bei diesem Metall vorlagen. Im Harn betrug die Kupfermenge nie mehr als 0,8 mg, dreimal war der Nachweis negativ.

Schon diese Reihe der Untersuchungen zwang, die im Versuchsplan (s. S. 23) aufgestellten Fragen als unbeantwortbar aufzugeben. Besonders hervorzuheben ist, daß der Kot des Verfassers, der nur einen Guß mitgemacht und sich nur 15 Minuten im Gießraum aufgehalten hatte, am zweiten Tag noch größere Mengen Zink enthielt als am Versuchstag selbst (18,6 gegenüber 11,6 mg).

Das Kupfer war in sämtlichen Koten, aber in weitaus niedrigeren Mengen, vorhanden. Werten von 28,3 mg Zink stehen solche von 3,8 mg Kupfer als Höchstmenge gegenüber.

Tabelle 2.

Übersicht über die Mengen Zink und Kupfer, die im Stuhlgang und im Harn von Versuchspersonen 5 Tage lang nach der Teilnahme an Messinggüssen gefunden worden sind (13. November 1911).

Versuchsperson	Zahl der Güsse	Versuchstag	Menge Zink (Zn) im		Menge Kupfer (Cu) im		Ist Gießfieber eingetreten? Sonstige Bemerkungen
			Stuhlgang mg	Harn mg	Stuhlgang mg	Harn mg	
Gießen von Messing mit 28 % Zink (doppelt raffiniert)							
Dr. Fr. dicht bei den Gießern stehend	6 Güsse während 3 Stunden	1	15,9	2,9	2,7	Spur	Nein (Vergl. im übrigen Anl. 5)
		2	12,2	3,4	3,0	„	
		3	7,9	1,6	2,7	„	
		4	10,8	1,3	2,4	„	
		5	7,5	0	2,9	sehr schwache Spur	
Dr. R. an verschiedenen Stellen stehend	5 Güsse während 2 Stunden	1	14,6	2,1	3,0	Spur	Nein (Vergl. im übrigen Anl. 5)
		2	16,7	2,1	2,0	0	
		3	6,6	2,2	2,6	0	
		4	8,7	1,0	2,4	Spur	
		5	8,4	0	1,2	0	
Diener A. in einiger Entfernung stehend	3 Güsse während 1 Stunde	1	14,5	1,9	2,4	Spur	Nein (Temp. 6¾ Uhr abends: 36,5°)
		2	11,2	3,6	3,2	„	
		3	5,3	2,1	1,4	„	
		4	5,6	0,8	2,0	„	
		5	6,6	0	1,8	„	

In einer weiteren Versuchsreihe (s. Tabelle 2) ergab sich überzeugend, daß an den fünf auf den Gießtag folgenden Tagen nicht etwa die Zinkgehalte der Kote ganz oder annähernd auf den Wert Null herabgingen, sondern sogar mit Schwankungen oder Höchstwerten am fünften Tag immer noch auf 6,6 bis 8,4 mg Zink verblieben, und auch die Harne wenigstens noch 4 Tage lang bestimmbare, zum Teil am 2. Tag die höchsten (3,4 und 3,6 mg), Zinkmengen enthielten; das Kupfer im Kot war in größeren Mengen als ohne Gießdampfaufnahme vorhanden und zeigte eine vom Zink verschiedene Ausscheidungskurve. Die Versuchspersonen schieden im Kot und Harn je nachdem sie 2 oder 3 Stunden im Gießraum gewesen waren und 3, 5 oder 6 Güssen beigewohnt hatten, 52, 62 oder 63,5 mg Zink aus. Zweifellos sind diese Werte gegenüber den normalen Zahlen erhöht; Abzüge für den normalen Zinkgehalt lassen sich bedauerlicherweise nicht machen, und in Tab. 1 zeigten Arbeiter, die 15 Messinggüssen beigewohnt hatten, am 1. Tag im Kot die weit auseinander liegende Zahlen von 4,3 bis 28,3, bei Neusilber und Rotguß von 9,6—22,6 mg Zn. In einem weiteren Versuche an den nämlichen Versuchspersonen (Verfasser, Dr. Franz, Laboratiumsdiener A — siehe Tab. 3 —) wurden die Ausscheidungen vom Anfangstag bis zum 9. Tag mit Auslassungen geprüft. Hier zeigte sich deutlich, daß das mit dem Harn ausgeschiedene Zink selbst nach 9 Tagen noch nicht endgültig zur Ausscheidung gelangt war; zum

Tabelle 3.

Übersicht über die Mengen Zink und Kupfer, die im Stuhlgang und im Harn von Versuchspersonen bis zu 9 Tagen nach der Teilnahme an Messinggüssen gefunden worden sind (22. März 1912).

Versuchsperson	Dauer des Aufenthalts im Gießraum	Versuchstag	Menge Zink (Zn) im		Menge Kupfer (Cu) im		Ist Gießfieber eingetreten? Sonstige Bemerkungen
			Stuhlgang mg	Harn mg	Stuhlgang mg	Harn mg	
Gießen von Messing III mit 40% Zink							
Dr. Fr.	5 Güsse während 2 Stunden	1	27,2	6,6	4,0	Spur	Nein
		5	9,6	3,4	3,4	„	
		6	16,9	7,1	1,8	0	
		7	13,0	3,2	2,3	0	
		8	13,5	—	2,6	—	
		9	11,1	—	1,0	—	
Dr. R.	5 Güsse während 2 Stunden	1	—	3,2	—	(0,1)	Nein
		6	9,6	3,1	5,0	„	
		7	8,5	4,0	1,3	„	
		8	13,3	—	3,0	„	
		9	12,1	—	1,0	—	
Diener A.	8 Güsse während 3 Stunden	1	—	4,5	—	Spur	Nein
		5	—	1,9	—	„	
		6	5,9	4,7	0,6	0,6	
		7	8,2	—	1,5	—	
		8	11,2	—	2,1	—	

Vergl. im übrigen Anlage 5.

Teil lagen die Werte für den 6. oder 7. Tag höher als die des ersten Tags. Bei diesen Versuchen wurden Zinkmengen im Harn gefunden, wie sie bei den sonstigen Versuchen nicht vorhanden waren, 4,7, 6,6 und 7,1 mg Zn im Tagesharn (selbst am 6. und 7. Tag). Noch deutlicher wies die Untersuchung der Kote darauf hin, daß die selbst am 9. Tag noch hohen Zinkwerte 11,1 und 12,1 mg Zn gegenüber 27,2 am ersten, und 9,6, 16,9, 13,0 und 13,5 mg Zn am 5. bis 8. Tag der Versuchsperson Dr. F.) nicht lediglich aus den aufgenommenen Gießdämpfen stammen konnten, die die drei Versuchspersonen bei ihrer Teilnahme an 5—8 Messinggüssen (mit verhältnismäßig hohem Zinkgehalt) an einem Tag aufgenommen hatten. Kupfer fand sich auch bei diesem Versuch in verhältnismäßig hohen Mengen und — wenn man Wert darauf legen will — trotz des verhältnismäßig geringen Kupfergehalts der gegossenen Legierung in verhältnismäßig hohen Mengen (3,4, 4,0 und 5,0 mg am 5., 1. und 6. Tag). Wie in Tabelle 2 betrugen die Kupferwerte im Harn entweder Null oder Spuren; nur einmal wurde 0,6 mg gewogen (während die gefundene höchste Menge 0,8 mg betrug — siehe Tabelle 1 —).

Diese Befunde führten dazu, an den drei Versuchs- und anderen Personen in einer Zeit, in der sie kein Zink aufgenommen hatten, Kot und Harn auf etwaigen Zink- (und Kupfer-) Gehalt zu prüfen.

In zahlreichen Versuchen (vergl. die vorhergehende Abhandlung des Verfassers und Weitzels) konnte nachgewiesen werden, daß unter den jetzigen Lebensbedingungen der Kulturnationen ohne Ausnahme der menschliche Kot beträchtliche, bis zu rund 19 (ja 39) mg ansteigende Zinkmengen enthält und auch im Harn, bei Verarbeitung genügend großer Mengen, Zink in Mengen bis zu 1,0, bisweilen sogar 2 mg pro Tag gefunden werden. Die Mengen können beträchtlich schwanken, so für den Kot etwa zwischen 2 und 19 mg, ohne daß man die Bedingungen[1]) hierfür zu erkennen vermag, die die Abstoßung von Zink (und auch von Kupfer) aus den Depots (Leber und Muskeln) und die Abscheidung auf den Darm und die Ausscheidung mit dem Harn beherrschen. Bei dieser Sachlage wird es verständlich, daß man aus den Analysen von Kot und Harn keinen sicheren Schluß auf die Menge des unmittelbar vorher resorbierten Zinks zu machen vermag, da man den Anteil nicht bestimmen kann, der im Organismus (Leber) deponiert wird, und nicht zu ermitteln vermag, wieviel Zink auch ohne die Aufnahme von Zink aus den Gießdämpfen im Kot und Harn aus den Depots zur Abscheidung gekommen wäre.

Mit dieser bei Rost und Weitzel eingehend beschriebenen Feststellung war der Schlüssel zum Verständnis des eigentümlichen Verhaltens der Ausscheidungskurve des Zinks im Kot und Harn gefunden. Nach der Aufnahme von Zink in Messinggießdämpfen ist also gar nicht eine etwa den Ausscheidungsgesetzen der fettlöslichen und im Körper zeitweilig zurückgehaltenen Borsäure[2]) entsprechende nach Tagen zum Nullwert abfallende Ausscheidungskurve zu erwarten. Die in den Ausscheidungen Kot und Harn ermittelten Zinkmengen dürfen nicht lediglich auf die gerade — mit den Gießdämpfen oder in den Zinkhütten — aufgenommenen Zinkmengen bezogen werden; die Mengen Zink, die sich im Kot und im Harn nach Beteiligung am Messingguß finden, haben vielmehr eine doppelte Quelle, sie entstammen einmal unmittelbar oder mittelbar den mit den Gießdämpfen zugeführten Zinkmengen, sodann aber bestehen sie aus Zink, das, als ständig aus den Metalldepots, der Leber und den Muskeln, abgestoßen, einerseits auf den Darm abgeschieden wird, andererseits die Niere passierend angenommen werden muß.

Aus diesen Feststellungen ergibt sich, daß die Beweisführung zahlreicher Autoren in der Fachliteratur unhaltbar geworden ist, die sich für die Erklärung des Auftretens von Gießfieber auf Spuren oder höchstens rund 1 mg im Harn betragende Zinkmengen gestützt hatten: aus dem Gehalt des Harns und des Kotes an Zink darf nicht ohne weiteres auf eine gleichzeitige oder kurz vorher erfolgte Aufnahme dieses Metalls in Gießdämpfen usw. geschlossen werden. Man würde sonst ebenso auf Kupfer als Ursache des Gießfiebers schließen können, wenn eine solche Annahme nicht durch Lehmanns Experimente auszuscheiden hätte.

---

[1]) Möglicherweise ist auch die Kotmenge von Einfluß auf den Zinkgehalt im Tageskot; bei sehr großen Mengen wurden jedenfalls Mengen über 20 mg Zn gefunden.

[2]) E. Rost, Zur Kenntnis der Ausscheidung der Borsäure. Arch. internat. de pharmacodyn. Bd. 15, 1905, S. 291.

Und endlich erscheint es ausgeschlossen, daß man auf diesem Wege der Klärung der Frage nach der Ursache des Gießfiebers und Zinkhüttensiechtums näherkommen kann, da man, selbst wenn man eine zinkfreie Nahrung vorübergehend genießen könnte, doch nicht in der Lage sein würde, festzustellen, wie hoch die aus den Depots (Leber, Muskeln) stammende und täglich zur Abscheidung in den Darm hinein und zur Ausfuhr gelangende Zinkmenge im Kot und Harn ist, die von der Gesamtausscheidung in Abzug gebracht werden müßte. Insbesonders können so kleine Mengen Zink, wie sie z. B. von Lehmann, Arnstein und Seiffert gefunden worden sind, nicht als sicher und einzig aus den aufgenommenen Gießdämpfen stammend angenommen werden. Mengen von 0,64 bis 1,90 mg Zink (Lehmann)[1]) im Tagesharn können sich schon normalerweise im Harn finden (Rost und Weitzel); anders natürlich, wenn Mengen bis zu 4,4 mg Zn (Maximalwert vorstehender Untersuchungen) vorhanden sind; hiervon ist mit aller Sicherheit ein Teil den aufgenommenen Gießdämpfen zuzuschreiben.

Schließlich wurden noch Versuchstiere in derselben Gießerei, in der die bisher besprochenen Versuche ausgeführt waren, den Gießdämpfen ausgesetzt und nach einer gewissen Zeit getötet. Die Versuche wurden hauptsächlich zu dem Zweck angestellt, um zu prüfen, auf welchem Weg die in den besprochenen Versuchen in den Körper gelangten Metalle und insbesondere, ob sie durch die Lunge aufgenommen werden.

Verwendet wurden 3 Hunde, 2 große Kaninchen und außerdem nebenbei 2 Kanarienvögel. Bei 2 Hunden und 1 Kaninchen wurden durch Anlegung eines Luftröhrenschnittes die oberen Luftwege mit ihren Schutzvorrichtungen für die Lungen ausgeschaltet, so daß die Gießdämpfe unmittelbar in die Lungen eingeatmet wurden. Dem einen der beiden tracheotomierten Hunde wurde außerdem die Schlundröhre doppelt abgebunden, so daß Gießdämpfe nicht durch Verschlucken in den Magen gelangen konnten. Die vormittags zwischen $9^1/_2$ und 10 Uhr in Narkose operierten Tiere kamen nachmittags zwischen 1^{00} und 3^{05} zum Versuch und wurden dann nach dem Laboratorium des Gesundheitsamtes zurückgebracht, wo sie nach verschieden langer Zeit getötet wurden.

In der Gießerei wurde am Versuchstag Messing III mit einem Gehalt von 40% Zink gegossen. Da die Ventilationseinrichtung infolge eines Riemendefektes außer Betrieb war, war die Temperatur unangenehm hoch, und die Gießdämpfe hielten sich ziemlich lange in der Luft des Gießraums. Während sich die Tiere im Gießraum aufhielten, wurden fünf Güsse Messing ausgeführt. Die beiden kleinen tracheotomierten Hunde wurden dicht neben der Gießstelle auf den Armen gehalten und von Zeit zu Zeit mit einem feuchten Schwamm an der Halswunde betupft. Die beiden Kaninchen saßen, gleichfalls in unmittelbarer Nähe, etwa 1 m über dem Fußboden auf einem Gestell. Der dritte (größere) Hund blieb dicht daneben im Käfig. Ein Bauer mit 2 Kanarienvögeln hing in Kopfhöhe über den Gießformen.

---

[1]) Lehmanns Gießarbeiter schied am ersten Tag nach einstündigem Verweilen bei der schwachen Zinkoxydkonzentration in 1080 ccm Harn 1,0 mg Zn, am zweiten Tag desgleichen bei der starken Konzentration in 620 ccm 0,64 mg Zn und an den drei (vier) den Versuchstagen folgenden Tagen 1,9, 1,15 und 1,0 mg Zn aus.

Irgendwelche innerhalb der nach der Fragestellung zulässigen Beobachtungszeit auftretende Vergiftungserscheinungen wurden bei keinem der Tiere beobachtet. Über die Temperaturen und sonstiges gibt die Anlage 6 im Anhang Aufschluß.

Zur Untersuchung der Organe und Flüssigkeiten auf Zink und Kupfer wurden, unter sorgfältiger Vermeidung einer Verunreinigung mit etwa am Fell haftenden Metallteilchen, Lunge, Leber, Galle, Magendarm mit Inhalt (abgebunden) und, soweit vorhanden, Harn entnommen.

Die beiden Kanarienvögel waren am folgenden Tage noch vollkommen munter; eines der beiden Tiere wurde fünf Tage später tot aufgefunden.

Nach den Analysenzahlen, die in nachstehender Tabelle zusammengestellt sind, haben die Versuche folgende Ergebnisse gehabt.

Tabelle 4.

Übersicht über die Mengen Zink und Kupfer, die in Organen usw. von Tieren gefunden worden sind, die Gießdämpfen in einer Messinggießerei ausgesetzt wurden (22. März 1912).

Versuchstier	Es wurden ermittelt:									
	In Magen u. Darm nebst Inhalt		Leber		Galle		Lunge		Harn	
	Zn mg	Cu mg	Zn mg	Cu mg	Zn mg	Cu mg	Zn mg	Cu mg	Zn mg	Cu mg
Hund Nr. 208 (8,0 kg) . .	14,6	2,1	15,4	11,7	1,0	Spur	3,9	Spur	1,9	Spur
Hund Nr. 213 Tracheotomie (3,6 kg)	9,6	Spur	8,7	5,8	0,6	Spur	1,8	0	—	—
Hund Nr. 215 (Tracheot. u. Ösophagusunterbindung 2,9 kg)	7,2	0,8	6,9	7,2	0,3 (?)	Spur	2,6	0,6	—	—
Kaninchen Nr. 228 Tracheotomie (4,5 kg)	17,5	2,8	6,9	0,6	0,5	0	2,1	0	—	—
Kaninchen Nr. 229 (4,2 kg)	Analyse verunglückt		5,3	0,5	1,0	Spur	2,4	Spur	—	—

Vergleiche im übrigen Anlage 6.

Die Lungen der tracheotomierten Tiere enthielten keine größeren Mengen Zink als die der nichttracheotomierten Tiere.

Da im Magen- und Darminhalt auch des Hundes mit Schlundröhrenabbindung[1]) sich (7,2 mg) Zink fand, dürfte ein Teil des durch die Lungen aufgenommenen Zinkes durch Abscheidung auf den Darm in dessen Inhalt gelangt sein; ein anderer Teil ist als unter den jetzigen Lebensbedingungen normal vorkommend und aus den Beständen der Leber und der Muskeln stammend anzusehen. Nach den Unter-

[1]) Die doppelte Abbindung erwies sich bei der Obduktion als einwandfrei ausgeführt.

suchungen von Rost und Weitzel kann nicht angenommen werden, daß ein knapp 3 kg schwerer Hund so hohe Zinkmengen ohne unmittelbar voraufgehende Zinkzufuhr im Darminhalt aufweist.

Der Zinkgehalt der Leber war je nach dem Gewicht der Tiere verschieden hoch; in keinem Fall höher, als nach Rost und Weitzels Zahlen als normal anzusehen ist. Bei der Kürze der Beobachtungszeit von etwa 3 Stunden dürfte das im Leberdepot vorgefundene Zink lediglich aus der Vorversuchszeit stammen; auf Rechnung des im Gießraum eingeatmeten Zinks dürfte bei der Kürze der Beobachtungszeit nichts zu setzen sein.

Daß Zink tatsächlich in den Körper übergetreten ist, zeigt der Befund von 1,9 mg Zink in der kleinen Menge Harn, die sich in der Blase von Hund 208 vorfand.

Entsprechend den im vorausgehenden beschriebenen Versuchen und den Ergebnissen der Untersuchungen von Rost und Weitzel war durchweg der Gehalt an Kupfer beträchtlich geringer oder fehlte ganz. Nur in der Leber der drei Hunde fanden sich nicht unbeträchtliche Mengen Kupfer vor[1]).

Das hauptsächliche Ergebnis dieser Versuche dürfte sein, daß beim Einatmen von Gießdämpfen Zink in nachweisbarer Menge, Kupfer in Spuren resorbiert und, im Blute kreisend, in dem Harn, auf den Darm und durch die Galle abgeschieden wurde. Der Versuch am tracheotomierten Hund mit abgebundener Schlundröhre spricht dafür, daß die Bestandteile der Gießdämpfe (Zink und Kupfer) von der Lunge aufgenommen wurden.

Die diese Versuche ausführenden Personen waren dieselben, die vorher, ebenfalls bei nicht arbeitender Ventilation sich den Gießdämpfen ausgesetzt hatten. Dr. R. und Dr. Fr. hielten sich gleichlange im Gießraum auf und standen während der 5 Güsse dicht bei den Gießern; A hatte schon vorher 3 Güssen beigewohnt, atmete also im ganzen die Dämpfe von 8 Güssen ein. Von den drei Versuchspersonen erlitt keiner Gießfieber, obwohl die Temperatur des Gießraumes besonders hoch war, das gegossene Messing einen außergewöhnlich hohen und jedenfalls den höchsten Zinkgehalt unter allen unseren Versuchen aufwies und obwohl der Ventilator stillstand.

Hinsichtlich der Prophylaxe des Gießfiebers läßt sich aus den im Vorstehenden geschilderten Beobachtungen zu den seit 1845 gemachten zahlreichen Vorschlägen zur Verhütung folgendes sagen. Bis zum Jahre 1895 scheint sich nicht viel geändert zu haben. Die Ergebnisse der preußischen Erhebung zeigen dies. Die Verhältnisse haben sich aber seitdem und seit den Ermittelungen in Württemberg gegenüber früher gebessert, wie auch unsere Erfahrungen in sieben Berliner Betrieben zeigen. Den wirksamsten Schutz dürften geeignete technische Einrichtungen gewähren. Hier kann in den größeren Werken ohne Zweifel durch geeignete Exhaustoren der Gießplätze, sonst durch wirksame Ventilation, durch Erhöhung der Gießräume usw. wesentlich zur Verhütung des im Einzelfall harmlosen, bei häufiger Wiederholung aber möglicherweise doch nicht gesundheitlich unbedenklichen Gießfiebers beigetragen

[1]) Vergl. die Ausführungen über die Ausscheidung der Schwermetalle auf den Darm und in der Galle bei E. Rost, Notiz zur Kenntnis der Ausscheidung des Borax. Verh. d. Physiol. Gesellschaft zu Berlin. Arch. f. Physiologie 1899. S. 104.

werden. Auch in kleineren Betrieben müßte auf entsprechende Abwehrmaßnahmen Bedacht genommen werden. Ob darüber hinaus auch der einzelne Mann durch eine geeignete Apparatur geschützt werden könnte, muß künftiger Erfahrung vorbehalten bleiben.

Für die Ausführung der Analysen bin ich meinen Kollegen, den ständigen Mitarbeitern, Technischem Rate Herrn A. Weitzel und Herrn Dr. Sonntag, zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Das seit Blandet und Greenhow wohl toxikologisch und gewerbehygienisch eingehend studierte, aber dem Kliniker und dem praktischen Arzt aus eigener Erfahrung kaum bekannte Gießfieber gehört zu den interessantesten Erkrankungen. Über die im Vorstehenden beschriebenen fremden und eigenen Untersuchungen mit Kupferzinklegierungen verschiedenen Zinkgehalts, in deren Verlauf von Lehmann der experimentelle Beweis erbracht worden ist, daß auch unvermischtes reines Zink Gießfieber erzeugen kann, ist zusammenfassend folgendes zu sagen:

Für den Betroffenen einer akuten fieberhaften Infektionskrankheit ähnlicher als einer der üblichen Vergiftungen ist das Gießfieber sowohl durch das nach einer 6—8 Stunden langen Latenzzeit unvermittelt, ohne Vorboten, einsetzende Anfangsstadium (Allgemeines Krankheitsgefühl, Mattigkeit, Schwere der Beine, Frostschauer, Schüttelfrost, Temperatursteigerung), als durch die kritische, mit Schweißausbruch einhergehende Entfieberung und endlich durch die kurze Dauer und den in der Regel folgenlosen Verlauf des Anfalls gekennzeichnet. Im Anfall wird Tachycardie (bis 120 Pulse) und Temperatursteigerung bis über 39° beobachtet; Atmung und Verdauungstätigkeit sind nicht charakteristisch ergriffen. Reizerscheinungen an den oberen Luftwegen, heftiger Kopfschmerz u. a. hängen wohl mit sekundären Faktoren (schlechter Entlüftung der Gießräume, Länge der Arbeitszeit, unhygienischer Lebensweise der Arbeiter am Abend vor dem Gießtag und in der Gießzeit selbst, Verunreinigungen des Messings) zusammen. Von einem Gießfieberanfall zu reden ist man nur dann berechtigt, wenn die typischen Kennzeichen, darunter die Temperaturerhöhung, vorhanden sind. Eine spezifische Behandlung gibt es nicht.

Von mehreren möglichst gleichmäßig gehaltenen Versuchspersonen, die zum ersten Male oder nach monate- oder jahrelangen Pausen in einen Gießraum kamen, erkrankte immer nur ein Teil. Voraussagen konnte man weder für seine Person noch nach Beobachtung anderer für diese das Auftreten des Gießfiebers. Vielfach trat eine Gewöhnung ein; einzelne Personen schienen relativ immun zu sein.

Völlig harmlos kann jedoch das Gießfieber in allen Fällen nicht genannt werden (Beobachtung an einer der Versuchspersonen, einem Arzt). Selbst wenn es nicht zum regelrechten Gießfieberanfall kommt, können sich Störungen einstellen, die immerhin als nicht unbedeutende Eingriffe in die Tätigkeit der Blutkreislauforgane und des zentralen Nervensystems anzusehen sind.

Versuche an Tieren (unversehrten und tracheotomierten), dem Gießfieber ähnliche Erscheinungen nach Einatmung von Messing- oder Zinkdämpfen im Laboratorium und im Gießraum zu erzeugen, schlugen fehl. Doch ergab ein Versuch an einen tracheo-

tomierten und mit Unterbindung der Schlundröhre versehenen Hund, daß nach Einatmung von Gießdämpfen Zink (und Kupfer) auf dem Weg der Resorption ins Blut und dem der Ausscheidung in den Darmkanal übertritt.

Was die Aufklärung der Ursachen des Gießfiebers anlangt, so sprechen auch vorliegende Untersuchungen dafür, daß lediglich das Zink, nicht aber das Kupfer der Legierung oder Verunreinigungen ihrer Bestandteile das Gießfieber hervorruft. Der Flugstaub in Messinggießereien enthielt etwa 16 % Zink und etwa 1 % Kupfer. Arsenverbindungen konnten selbst in 300 l Gießdämpfen, d. h. in einer Menge Luft, wie sie etwa bei 8—10 Güssen von einer Person eingeatmet wird, nicht nachgewiesen werden. Das typische Fieber stellte sich nur nach dem Einatmen von Dämpfen von Messing mit hohem Zinkgehalt ein. Weiteres läßt sich selbst unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Untersuchung der Ausscheidungen von Zink und Kupfer (s. u.) mit Sicherheit nicht sagen; ob das Zink als Zinkdampf zur Wirkung kommt, wofür mancherlei spricht, oder ob etwa flüchtige organische Zinkverbindungen (Zinkcarbonyl oder etwas Ähnliches) als das Wirksame anzusprechen sind, oder ob Lehmann recht hat, der anzunehmen geneigt ist, das Zinkoxyd wirke mittelbar, indem es eine Resorption durch das Zinkoxyd abgetöteten und veränderten Zellinhalts (Bakterien oder Epithelien) aus den Atmungswegen bewirke, kann zurzeit nicht entschieden werden, da K. Beck in den Zinkdämpfen weder Zink als unoxydiertes Metall noch Kohlenoxyd, frei oder gebunden, nachweisen konnte. Die letzte Ursache, der Mechanismus des Gießfiebers, bleibt auch hiernach noch unaufgeklärt.

Versuche, aus den im Harn und Kot von Arbeitern, Versuchspersonen und Versuchstieren ermittelten Zinkwerten bestimmte Schlüsse zu ziehen, sei es auf die Ursache des Gießfiebers, sei es auf die besondere Disposition der einen oder die Giftfestigkeit der anderen Arbeiter, konnten nicht zum Ziel führen, da inzwischen von Rost und Weitzel festgestellt worden war, daß Zink, das unter den jetzigen Lebensbedingungen zu den regelmäßigen Bestandteilen des menschlichen und tierischen Körpers gehört, sich jederzeit im Kot in bestimmbaren Mengen vorfindet und bei Verarbeitung von Tagesharnen (etwa 1500 ccm) auch im Harn in wägbaren Mengen nachgewiesen werden kann bei solchen Personen, die sich nicht in einem Gießraum aufgehalten haben. Die Kote waren bisher nur einmal qualitativ, niemals aber quantitativ auf einen Zinkgehalt untersucht worden.

Gegenüber dem normalen Zinkgehalt der Kote von 2—19 mg (bei nicht sehr großen Kotmengen) im Tag war der Kot nach dem Einatmen von Gießdämpfen nur unwesentlich erhöht (bis zu 28 mg); allerdings fanden sich im Tagesharn statt Mengen von Spuren bis zu 1,9 mg solche bis zu 4,4 mg. Kupfer war ein fast ständiger Begleiter des Zinks, nur waren seine Mengen wesentlich kleiner, sie betrugen im Kot meist nur einige Milligramme und waren im Harn höchstens qualitativ nachweisbar. Zink und Kupfer unterlagen jedes für sich besonderen Gesetzmäßigkeiten bei der Ausscheidung. Merkliche Unterschiede im Zink- (und Kupfer-)Gehalt des Kotes und des Harns ergaben sich nicht, je nachdem Gießer oder Versuchspersonen geprüft, die Aufnahme der Dämpfe von zinkreichen oder zinkarmen Legierungen oder eine verschieden lange Aufnahmezeit verfolgt wurde. Da die normalen Zinkwerte im Kot

beträchtlich schwanken, so kann ein verläßlicher Faktor zur Ermittelung des mit den Gießdämpfen aufgenommenen Zinks nicht in Rechnung gesetzt werden. Die in der Fachliteratur gezogenen Schlüsse aus einem Gehalt des Harns von Gießarbeitern im Gießfieberanfall von etwa 1 mg Zink auf das Zink als Ursache des Gießfiebers und des Zinkhüttensiechtums sind nicht mehr wissenschaftlich haltbar.

Der Kot enthielt noch neun Tage nach dem Gießtag ziffernmäßig bestimmbare Zinkmengen, was dafür spricht, daß das Zink im Kot und Harn hauptsächlich Depotzink ist, d. h. größtenteils aus dem in der Leber und in den Muskeln aufgestapelten und in der Galle enthaltenen normalen Zink stammt.

Aus den Tierversuchen ergibt sich, daß Zink und Kupfer aus den Gießdämpfen bei abgebundener Schlundröhre von der Lunge aus in den Organismus und von da — das Zink in bestimmbaren Mengen, das Kupfer in Spuren — auf den Darm abgeschieden werden.

Die Verhütung des Gießfiebers kann nicht allein durch persönliche Prophylaxe gewährleistet werden. Das Arbeiten in geräumigen, hohen, gut gelüfteten Räumen, möglichst mit energisch wirkender Absaugvorrichtung der Gießplätze, so daß Gießdämpfe nicht in nennenswerter Menge in den Raum treten und von den Arbeitern eingeatmet werden können, sind als zweckmäßiger Schutz der Arbeiter anzusehen. Solche technischen Maßnahmen dürften sich in größeren Betrieben gewiß durchführen lassen. Auch in Berlin konnte in einem der besichtigten Betriebe festgestellt werden, daß in einer solchen modernen Anlage Gießfieber nicht mehr zur Beobachtung gekommen ist. Aber auch die kleineren Betriebe müßten auf die Einrichtung ihren Verhältnissen angepaßter Abwehrmaßnahmen bedacht sein.

Schlußsätze.

1. An der Bedeutung des Zinks in den Gießdämpfen als alleinige Ursache des Gießfiebers ist nicht mehr zu zweifeln.

2. In welcher Form das Zink einen Gießfieberanfall auslöst und unter welchen Bedingungen diese noch immer der Erforschung Schwierigkeiten entgegensetzende Erkrankung zustande kommt, hat sich auch durch die Untersuchung der Ausscheidungsverhältnisse — bei Berücksichtigung des normalerweise im Kot und im Harn sich vorfindenden Zinks — nicht einwandfrei feststellen lassen.

3. Eine Gewöhnung an die Gießdämpfe wird mit Sicherheit nicht erreicht.

4. Das gegenüber früher zwar verhältnismäßig seltener auftretende Gießfieber darf nicht in allen Fällen als durchaus gleichgültig in gesundheitlicher Hinsicht angesehen werden.

5. Durch geeignete Betriebseinrichtungen, die wohl in den meisten Messinggießereien durchführbar sind, läßt sich ein weitgehender Schutz der Arbeiter gegen die Einatmung größerer Mengen von Gießdämpfen und damit vor der Gießfiebererkrankung erreichen.

Berlin, Ende Mai 1919.

Anhang, umfassend Anlagen 1 bis 6.

Anlage 1.

Versuchsaufzeichnungen nach der Teilnahme an Messinggüssen einer größeren Berliner Gießerei am 8. August 1906, vormittags zwischen 11 und 12 Uhr.

1. **Verfasser.** Gießzeit: 11 bis $11^1/_2$ Uhr. Beginn der Erkrankung: $7^1/_2$ Uhr abends. Im Gießraum Fenster geschlossen, Ventilator nicht in Tätigkeit. Versuchsperson nicht unmittelbar neben den Gießtiegeln stehend oder den Kopf über die aufsteigenden Gießdämpfe haltend. Abends $7^1/_2$ Uhr stellte sich plötzlich und unvermittelt (auf der Straße) Hitzegefühl, Schwere und Müdigkeit in den Knien ein, ganz ähnlich einem akuten Influenzaanfall. Zustand verschlechtert sich, Frösteln, Müdigkeit in den Knien und Oberschenkeln, besonders beim Treppensteigen. Abends 9 Uhr zu Hause angelangt, rührte ich das Abendessen nicht an. Appetitlosigkeit, Klopfen der Temporalgefäße, leichter Kopfschmerz. Allgemeine Müdigkeit; ich schlafe auf einem Stuhl sitzend ein. Gefühl, als sei ein schweres Fieber im Anzug. $9^3/_4$ Uhr: Die Mattigkeit zwingt mich, das Bett aufzusuchen. Beim Eintritt ins Schlafzimmer Schüttelfrost. Mußte, da ich die Unterbeinkleider nicht selbst ausziehen konnte, unterstützt und mit den Füßen ins Bett gehoben werden. Schüttelfrost hält zunächst noch im Bett an. 38,3° C in der Achselhöhle, gegen 36,8 normal. Puls 70 (normal 64). Es wird ein Glas Milch getrunken.

Schlaf bis $11^1/_4$ Uhr. Erwache im Schweiß gebadet. 38,6° C. Hemd gewechselt.

Gegen 1 Uhr wieder eingeschlafen. Am nächsten Morgen fast frei von Störungen erwacht. Temperatur 37,1° C. Nur bleibt noch leicht auftretendes Schwitzen (besonders an der Stirn) bestehen.

Harn von abends 11 Uhr und morgens 7 Uhr ohne Eiweiß und Zylinder.

Am übernächsten Tag völlig wiederhergestellt.

2. **Dr. K. Beck.** Nachdem ich bereits an mehreren früheren Tagen mit anderen gelegentlich chemischer Untersuchungen in einer Messinggießerei mich aufgehalten hatte, ohne daß die Beteiligten erkrankt waren, trat das Gießfieber bei mir am Abend des Gießtages am 8. August in folgender Weise auf: Kurz nach der Abendmahlzeit, gegen $8^1/_2$ Uhr, befiel mich eine geradezu schmerzhafte Müdigkeit in den unteren Extremitäten. Gleichzeitig bekam ich einen heißen Kopf und auffallend rote Gesichtsfarbe. Beim Versuch, tief Atem zu holen, entstand ein heftiger Hustenreiz. Um den Zustand zu bessern, beschloß ich, spazieren zu gehen, gab jedoch diesen Plan wegen des sich einstellenden starken Fröstelns auf und zog es vor, mich ins Bett zu legen. Das Frösteln und die Atemnot dauerten noch längere Zeit an, um dann einer starken Hitze Platz zu machen. Kopf und Hände fühlten sich glühend heiß an, der Puls war beschleunigt, 96 Schläge gegen 78 normal. Nach ungefähr einer Stunde verfiel ich in Halbschlaf, aus dem ich gegen 3 Uhr morgens, in Schweiß gebadet, erwachte. Ich wechselte die Wäsche und versuchte wieder einzuschlafen, was jetzt nur in sehr unvollkommener Weise sich ermöglichen ließ. Am nächsten Morgen hatte ich das Gefühl der Benommenheit, wie man es auch nach einem schweren Fieber zu verspüren pflegt. Dieses Gefühl dauerte noch bis ungefähr 12 Uhr. Von da fühlte ich mich wieder ganz normal.

3. **Dr. Löwe.** Einige Stunden nach dem Verlassen der Gießerei verspürte ich ein unangenehmes Gefühl in den Atmungswegen und einen metallartigen, süßlichen Geschmack im Munde. Im Laufe des Nachmittags verschwanden diese Empfindungen, und es trat an deren Stelle ein eigenartiger Drang, die Schlingbewegungen auszuführen. Wurde dem Reize entsprochen, so folgte der ausgeführten Bewegung des Hinunterschlingens ein Hustenanfall, der mit lästigen, kratzenden Schmerzen verbunden war. Gegen Abend machte sich eine auffällige Schwere und Abgeschlagenheit der Beine bemerkbar. Bemerkenswert ist die völlige Appetitlosigkeit, die sich den ganzen Tag über zeigte, und es mir unmöglich machte, etwas zu essen. Gegen 8 Uhr abends traten die ersten objektiven Zeichen auf, indem innerhalb einer Stunde die Körpertemperatur von 36,5 auf 38,8° C und die Pulsfrequenz von 62 auf 96 in der Minute stieg. Parallel damit lief eine Frostempfindung im ganzen Körper, die sich im Laufe einer Stunde vom leisen Frösteln bis zum ausgesprochenen Schüttelfrost steigerte. Am nächsten Morgen waren alle aufgeführten Erscheinungen bis auf einen dumpfen Druck im Kopfe verschwunden.

4. Dr. Graff. Nach dem Besuche der Messinggießerei merkte ich bis gegen Abend, abgesehen von mangelndem Appetit, keine unangenehmen Folgen der eingeatmeten Gießdämpfe. Gegen 7 Uhr fiel mir zuerst beim tiefen Atemholen ein eigenartiges unangenehmes stechendes Gefühl in der Lunge auf. Sonst fühlte ich mich bis gegen 9 Uhr noch wohl. Um diese Zeit überkam mich fast plötzlich ein Kältegefühl, das sich bis zum Schüttelfrost steigerte. Die Herztätigkeit wurde erhöht. Zugleich überfiel mich eine Schwäche, hauptsächlich der unteren Extremitäten. Es war mir eine große Anstrengung, einen dringlichen Brief zu dem meiner Wohnung ganz nahen Briefkasten zu besorgen. Ich mußte unterwegs mehrere Male stehen bleiben, um neue Kräfte zu sammeln. Da das Schwäche- und Kältegefühl anhielt, begab ich mich schon vor 10 Uhr ins Bett. Allmählich verwandelte sich das Kältegefühl in das Gegenteil. Nach etwa zweistündigem Schlaf erwachte ich, in Schweiß gebadet, konnte jedoch gut wieder einschlafen und schlief mit geringen Unterbrechungen bis zum nächsten Morgen. Irgend welche Beschwerde verspürte ich dann nicht mehr.

5. Diener Wuttke. In der Nacht nach dem Besuch in der Messinggießerei erkrankte ich an Fieber, Schüttelfrost, Brust- und Kopfschmerzen, Appetitlosigkeit und allgemeinem Unwohlsein. Auch empfand ich den Zwang, in kurzen Abständen tief zu atmen, wobei sich jedesmal Hustenreiz einstellte. Auch nach den früheren Aufenthalten in einer anderen Gießerei wurde ich von Kopfschmerzen und Schwindelanfällen befallen.

Anlage 2.

Aufzeichnungen des Dr. Franz über einen Anfall von Gießfieber am 8. Juli 1911.

Ich hielt mich von 10 Uhr vormittags bis $2^1/_2$ Uhr nachmittags fast ununterbrochen im Gießraum auf. Während meiner Anwesenheit wurden 8 Messinggüsse ausgeführt, wobei ich reichlich Gießdämpfe einatmete. Außerdem befand ich mich nach Beendigung der Gießarbeit von 4—$4^3/_4$ Uhr nachmittags im Gießraum.

Bereits gegen Ende meines ersten Aufenthalts im Gießraum Gefühl einer Entzündung der Augenschleimhäute und ein Gefühl von Wundsein in der Brust. Während des zweiten Aufenthalts am Nachmittag stellte sich eine ungewöhnliche Müdigkeit und Schwere in den Gliedern ein. Zu der Müdigkeit, die zunahm, gesellten sich Schmerzen in den Muskeln (Oberschenkeln) und Gelenken. Als ich zu Hause angekommen war, war $6^1/_2$ Uhr das Gefühl des Unbehagens (Schwindel, heftiges Kopfweh, Gliederschmerzen, Schmerzen in der Brust) so stark, daß ich mich niederlegen mußte. Kein Appetit. Etwa gegen $8^1/_4$ Uhr setzte ziemlich plötzlich ein starker Schüttelfrost mit Zähneklappern ein, so daß ich das Bett aufsuchte, wobei ich mich nur mit Mühe von den Kleidern befreien konnte. Der Schüttelfrost hielt längere Zeit an, und das Frostgefühl war außerordentlich lebhaft, trotzdem ich mit einem Federbett und mehreren Decken zugedeckt war. Temperatur: 8 Uhr 25 Minuten: 38,2°; 9 Uhr: 39,8°; 9 Uhr: 39,0°; 10 Uhr: 39,2°. Der Schüttelfrost ließ nach, das Gesicht war fieberhaft gerötet, ohne zu schwitzen. Es bestand ein starkes Krankheitsgefühl. Im Bett trank ich mehrere Glas heiße Milch. Temperatur: 10 Uhr 30 Minuten: 39,4°; 11 Uhr: 39,4°. Darauf Schlaf. Erst am übernächsten Tag wieder ganz hergestellt (s. im übrigen S. 17).

Anlage 3.

Aufzeichnungen über einen Versuch im Gießraum bei Neusilber- und Rotguß. (30. Mai 1911.)

Das Neusilber bestand aus 61 % Kupfer, 24 % Zink, 15 % Nickel, außerdem Phosphorkupfer und Magnesium zum Läutern.

Zahl der Güsse: 6 Neusilber- und ein Rotguß in der Zeit zwischen $10^1/_2$ und $12^1/_2$ Uhr vormittags. Beide Personen standen in möglichster Nähe der Gießer und atmeten möglichst viel Gießdämpfe ein. Der Gießraum wurde während der zwei Stunden nicht verlassen.

Bei keiner der beiden Personen trat Gießfieber ein.

Verf.: Gegen 2 Uhr nachmittags machten sich eine nicht zu verkennende Müdigkeit der Beine, besonders beim Treppensteigen, und ein leichtes Benommenheitsgefühl geltend.

Abends gegen 8 Uhr deutliches Schwitzen an der Stirn, so daß in den folgenden Stunden oft der klebrige (wie bei Fieber) Schweiß abgewischt werden mußte.

Dr. Franz: Gegen Abend stellte sich — abgesehen von einer durch die Hitze und den Staub hervorgerufenen Reizung der Augenbindehäute eine leichte Mattigkeit und Schwere in den Beinen ein. Keine Neigung zu Schweißausbruch, keine fieberhaften Erscheinungen.

Am gleichen Tag führten die Arbeiter P. und G. 15 Güsse von je 65 kg Neusilber während $9^1/_2$ und 3 Uhr und die Arbeiter H. und U. 5 Güsse einer gleichen Menge Rotguß in der Zeit von $9^1/_2$ bis $12^1/_2$ Uhr aus. Die Harnmengen der Arbeiter waren trotz dem Trinken reichlicher Flüssigkeitsmengen so gering, daß sie zur Zinkbestimmung durchaus nicht ausreichten.

Über die vier Gießer ist folgendes zu sagen:

P., 49 Jahre alt, großer starker Mann (99 kg schwer, 190 cm groß), seit 8 Jahren als Gießer tätig. Gibt an, nur einmal, zu Beginn seiner Beschäftigung im Gießraum, Gießfieber gehabt zu haben und seitdem davon verschont geblieben zu sein.

G., 43 Jahre alt, 70 kg schwer, 167 cm groß, seit 13 Jahren als Gießer tätig, in den letzten Jahren als Arbeiter am Ofen beschäftigt. Will häufig unter Gießfieber gelitten haben. Während sich das Fieber im Sommer nur ganz vereinzelt eingestellt habe, trete es im Winter verschieden schwer in Pausen von 8—14 Tagen auf, und zwar mitten in der Woche, aber nicht Montags.

U., 31 Jahre alt, mittelgroßer, starker Mann von 62,5 kg Gewicht und 165 cm groß, seit 6 Jahren als Gießer tätig. Gibt an, das Gießfieber im Winter, zuweilen auch während der regelmäßigen Arbeit gehabt zu haben, stets tritt das Fieber bei ihm auf, wenn seine Tätigkeit als Gießer unterbrochen wird, so z. B. nach Feiertagen oder wenn er sonst die Arbeit aussetzen muß. Dabei soll es keine Rolle spielen, ob am ersten Tag nach der Pause Rotguß, Neusilber oder Messing gegossen wird. Vom 16. Juni bis 1. Juli 1911 zu einer militärischen Übung eingezogen, hat er am Montag den 3. Juli die Arbeit wieder aufgenommen und am 4. wieder gegossen. Am Abend stellte sich ein typischer Gießfieberanfall mit Schüttelfrost und nachfolgendem Schweißausbruch ein.

H., 36 Jahre alt, untersetzter dicker, 87,5 kg schwerer, 165 cm großer Mann, seit 10 Jahren als Gießer tätig, davon die letzten 8 Jahre als Arbeiter am Ofen. Angaben wenig sicher; das Gießfieber trete nach mehrtägiger Unterbrechung der Gießertätigkeit bei ihm auf, im Winter jedoch bisweilen auch, wenn ununterbrochen von ihm gearbeitet werde.

Anlage 4.

Aufzeichnungen über das Verhalten der in Tabelle 2 näher bezeichneten Versuchspersonen nach dem Aufenthalt im Gießraum, als 3—6 Güsse mit einem zinkarmen Messing ausgeführt wurden (13. Nov. 1911). Infolge Motordefekts Stillstand des Ventilators. Äußerst starke Zinkoxydnebel.

Dr. Fr. Bereits während des Aufenthalts im Gießraum ($9-11^3/_4$ Uhr vormittags) machte sich bei mir ein beengendes Gefühl in der Brust verbunden mit Kratzen im Halse und in den Luftwegen bemerkbar. Im Laufe des Nachmittags gesellte sich dazu ein dumpfer Kopfschmerz, der Druck auf der Brust nahm zu Gewisse Mattigkeit in den Gliedern. Von etwa $6^1/_2-10^1/_2$ schwitzte ich stark im Gesicht und auch am Körper; mit dem Nachlassen des Schweißes nahm die Schwere in den Gliedern, besonders in den Oberschenkeln zu. Temperaturmessungen zu verschiedenen Zeiten ergaben 36,6—36,8°. Von etwa $12^3/_4$ nachts geschlafen. Am Morgen des nächsten Tages noch etwas Kopfschmerz sowie Druck auf der Brust und eine geringe Neigung zu Schweißbildung auf der Stirn. Gegen Mittag waren auch diese Erscheinungen verschwunden.

Kein typisches Gießfieber, keine Temperaturerhöhung.

Verf. Aufenthalt im Raum von $9^1/_4-11^1/_4$ vormittags. Während des Gießens leichter Hustenreiz. Auf der Fahrt von der Fabrik ins Gesundheitsamt geringe Atemnot (beim Treppensteigen), geringer Druck in den Schläfen, bisweilen Hustenreiz. Nachmittags steigert sich das Druckgefühl in den Schläfen. Geringe Müdigkeit, Frösteln. Abends $9^1/_2$ zu Bett, das durch eine Bettflasche vorgewärmte Bett wird als angenehm empfunden. Temp.: 36,7°. Ruhiger Schlaf. Am 14. November ohne alle Beschwerden.

Kein typisches Gießfieber, keine Temperaturerhöhung.

Anlage 5.

Gießversuch am 22. März 1912 (siehe Tab. 3).

5 Güsse Messing III (etwa 60% Kupfer, etwa 40% Zink) in der Zeit von 1 Uhr bis 3 Uhr 5 Min. nachm. Ventilation außer Betrieb. Drückende Luft und unangenehm hohe Temperatur. Dämpfe von Zinkoxyd in der Luft des Gießraums, vergleichbar einem Schneegestöber.

Dr. Rost: Die Gießdämpfe machen sich sehr störend bemerkbar, Kratzen im Halse, Druckgefühl auf der Brust. Keinerlei Flüssigkeit seit 7½ Uhr morgens aufgenommen.

Abends leichtes Frostgefühl. Temperatur normal. Am 23. März früh Gefühl, als bestünde leichtes Fieber. Temperatur nicht erhöht. Kein Gießfieber.

Dr. Franz: Der Aufenthalt im Gießraum weit lästiger als sonst empfunden. Kratzen und leichter Schmerz in der Brust, Müdigkeitsgefühl und Schmerz in den Beinen. Diese Symptome dauern bis zum Abend an und sind am nächsten Morgen fast verschwunden. Temperaturen, zu verschiedenen Zeiten gemessen, 36,8—37,0°. Kein Gießfieber.

Diener A: Im Gießraum von 11¾ Uhr vorm. bis 3 Uhr 5 Min. nachm. anwesend. Abends eine geringe Mattigkeit in den Gliedern, sonst keine Störungen. Temperatur normal. Kein Gießfieber.

Die drei Versuchspersonen sammelten ihren Speichel, der nach dem Filtrieren auf Zink und Kupfer untersucht wurde, er enthielt durchweg neben Zink auch Spuren Kupfer.

Am gleichen Tag wurden auch Proben von Staub, der sich auf den Ventilationshauben und auf einigen mit Wasser gefüllten Scheiben abgesetzt hatte, für die chemische Untersuchung (s. S. 21) entnommen.

Anlage 6.

Versuche an Hunden, Kaninchen und Kanarienvögeln mit Einatmung von Gießdämpfen in einer Messinggießerei (s. Tab. 4) (22. März 1912).

Hunde: Zwei etwa fünf Monate alte Geschwisterhunde (Nr. 213 und 215) und ein ausgewachsener Hund (Nr. 208) wurden zum Versuch verwendet, die beiden ersten nach Vornahme der Tracheotomie und bei 215 außerdem der Speiseröhrenabbindung in Chloroformnarkose. Beide Hunde erholten sich rasch. Bei 215 blieb die Atmung anscheinend unbeeinflußt, bei 213 ist sie aber nach der Operation vertieft, verlangsamt und mühsam. Der Transport nach der Gießerei nimmt zwei Stunden in Anspruch. Bei der Ankunft in der Fabrik sind die Atembeschwerden bei 213 stärker geworden.

Körpertemperatur um 1 Uhr 40 Min. (zwischen 1. und 2. Guß), 2 Uhr 20 Min. (nach dem 3. Guß) und um 4 Uhr 5 Min. (im Laboratorium des G. A.):

	1⁴⁰	2²⁰	4⁵
Hund 213	39,4°	39,7°	38,5°
Hund 215	39,0°	39,6°	37,8°
Hund 208	38,8°	38,8°	39,3°

Im Laboratorium zeigt sich Hund 215 verhältnismäßig munter, dagegen war 213 sehr matt und zeigte röchelnde Atmung. Alle drei Hunde werden mit Chloroform getötet; bei der Obduktion wird durch möglichst weitgehendes Ablösen des Fells usw. dafür gesorgt, daß die Eingeweide nicht mit Metallstaub verunreinigt werden.

Hund 213, getötet 4 Uhr 10 Min., weist in der Kanüle einen zähschleimigen Pfropf auf. Am Rand und auf der Oberfläche der Lunge kleine und große hell- und dunkelrote, zum Teil erhabene Flecke. Magen enorm mit Luft angefüllt.

Hund 215, getötet 4 Uhr 30 Min., die doppelte Unterbindungsstelle des Ösophagus einwandfrei. In der Trachealkanüle schleimiges Sekret. Lungenbefund noch ausgeprägter als bei 213. Hintere Lungenpartie hypostatisch blaurot.

Hund 208, getötet 4 Uhr 50 Min., Lungen ohne Befund.

Kaninchen. Tier 228 wird tracheotomiert.

	Körpertemperatur:		
	1⁴⁰	2²⁰	4¹⁰
Kaninchen 228 . .	39,3°	39,7°	39,2°
Kaninchen 229 . .	39,3°	39,7°	39,8°

Im Laboratorium fressen beide Tiere, die auch sonst anscheinend vollkommen munter sind.

Kaninchen 228 ist über Nacht gestorben, am nächsten Morgen totenstarr. Magen und Darm stark lufthaltig. Lunge ohne Befund, keine Reizerscheinungen. In der Kanüle Pfropf aus zähem Schleim. Kaninchen 229, am nächsten Morgen früh getötet. Temperatur 39,4° C.

Kanarienvögel: Von den beiden Tieren stirbt eins 5 Tage nach dem Versuch.

Literatur.

Thackrah, The effects of arts, trades and professions . . . on health and longevity: with suggestions for the removal of many of the agents which produce disease and shorten the duration of life. 2. Aufl. London, 1832, S. 101 und 102.

Blandet (1), Effets des vapeurs du zinc sur l'économie animale Annal. d'hyg. publ. 33, 1845, S. 462.

Blandet (2), Sur les effets du zinc dans les fonderies de cuivre. Compt. rend. Acad. des sciences, Bd. 20, 1845, S. 434.

Blandet (3), Du délire produit par l'inspiration des vapeurs d'oxyde de zinc. Annal. d'hyg. publ. 34, 1845, S. 222.

Guérard, Sur les effets des vapeurs de zinc, opposés à ceux des boissons aqueuses, prises avec excès. Ebenda, S. 224.

Reboulleau, Sur l'intoxication, produite par les vapeurs d'oxyde de zinc. C. rend. Acad. des sciences. 1847, II, S. 451.

Chevallier und de Loury, Mémoire sur les ouvriers qui travaillent le cuivre et ses alliages. Annal. d'hyg. publ. Bd. 43, 1850, S. 337, Bd. 44, 1850, S. 27.

A. Michaelis, Die physiologischen Wirkungen des Zinkoxyds. Archiv f. physiol. Heilkunde Bd. 10, 1851, S. 109.

Bouchut, Memoire sur l'industrie et l'hygiène de la peinture au blanc de zinc. Annal. d'hyg. publ. 47, 1852, S. 5 mit dem Extrait du rapport fait par Chevallier à l'Acad. nat. de médecine, S. 55.

Ph. Falck, Vergiftungen durch Zinkpräparate in Falcks, Virchows und Simons Handb. der Path. und Therap. 2. Bd., 1. Abt. 1855, S. 156.

Langendorff, Über die Gesundheitsrücksichten bei Anlage und Unterhaltung von Hüttenwerken. Zeitschr. f. Staatsarzneikunde Bd. 73, 1857, S. 281.

Greenhow, On brass-founders' ague. Medico-chirurgical transactions. Bd. 45, 1862, S. 177; gutes Referat „De la courbature ou fièvre des fondeurs" in Annal. d'hyg. publ. 2. Serie, Bd. 20, 1863, S. 467.

Hasselt, übersetzt von Henkel, Allgemeine Giftlehre 1862, S. 322.

Schnitzer, Fieber bei Messinggießern. Preuß. mediz. Zeitung 1862, S. 198; vollständig abgedruckt bei Sigel.

Carl Bischoff, Das Kupfer und seine Legierungen, 1865, S. 171.

Hirt, Die Krankheiten der Arbeiter. Bd. 1, 1871, S. 85; Bd. 2, 1873, S. 165; Bd. 3, 1875, S. 82.

Eulenberg, Handbuch der Gewerbe-Hygiene 1876, S. 720.

Hogben, Brass-workers' disease. Birmingham Medical Review. 1887, Mai.

R. M. Simon, Remarks on bassworkers' diseases. Brit. med. journ. 1888, I, S. 887.

Helpup, Über die toxischen Eigenschaften des Zinks. Diss. Greifswald 1889 (unter H. Schulz).

Arlidge, The hygiene, diseases and mortality of occupations. London (Parcival) 1892, S. 447.

Czajkowski, Berufskrankheiten. Zinkvergiftung. Ref. in Virchow-Hirsch' Jahresberichten 1893, I, S. 575.

R. M. Simon, Workers in copper, zinc, brass & tin. Journ. of the sanitary Institute 16, 1894, S. 90.

Jahresber. d. Preuß. Reg.- und Gewerberäte für 1894, S. 111, desgl. für 1895, S. 125.

Villaret, Gesundheitsschädigung durch Einatmen gasförmiger Produkte, in Albrechts Handbuch der praktischen Gewerbehygiene 1896, S. 114.

Lewin, Lehrbuch der Toxikologie, 1897, S. 107.

Seiffert, Die Erkrankungen der Zinkhüttenarbeiter und hygienische Maßregeln dagegen. Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege 29, 1897. S. 419.

Murray, Chronic brass poisoning. Brit. med. journ. 1900, I, S. 1334.

Lewin, Untersuchungen an Kupferarbeitern. Deutsche mediz. Wochenschr. 1900, S. 689.

Wutzdorff, Die im Zinkbetriebe beobachteten Gesundheitsschädigungen und die zu ihrer Verhütung erforderlichen Maßnahmen. Diese Arbeiten Bd. 17, 1900, S. 441.

K. B. Lehmann (1), Methoden der praktischen Hygiene, 1901, S. 625.

Tatham, Dust-producing occupations und Simon & Knyvett, Copper and brass in Olivers Dangerous trades. 1902, S. 144 und 455.

Leymann, Die Verunreinigung der Luft durch gewerbliche Betriebe. Weyls Handb. d. Hyg. 3. Suppl.-Bd., 2. Lieferung, 1903, S. 78.

Hohmann, Studie über Gießfieber (unter K. B. Lehmanns Leitung). Diss. Würzburg 1903.

Jahresberichte der Gewerbe-Aufsichtsbeamten für das Jahr 1903. Bd. II, 2, S. 77 und 4, 122, Bd. III, 26, S. 14. Die württembergischen Berichte abgedruckt bei Sigel.

E. Roth, Kompendium der Gewerbekrankheiten 1904, S. 37.

Großbritannien, Annual report of the chief inspector of factories and workshops for the year 1905. London, 1906. Appendix 1. Health of brassworkers. (T. M. Legge), S. 388.

Sicard, Copper and zinc poisoning-brass poisoning. New York med. Rec. 1905, S. 209 (zitiert nach Heffter und Loeb, Schmidts Jahrb. d. ges. Med. 1902—1906, Bd. 294).

Sigel, Das Gießfieber und seine Bekämpfung, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse in Württemberg. Vierteljahrsschr. f. ger. Med., 3. Folge, Bd. 32, 1906, S. 1.

K. B. Lehmann (2), Über Gießfieber. Hygien. Zentralbl. Bd. 2, 1906, S. 148.

Graeve, Beitrag zur Bedeutung des Gießfiebers in der Gewerbe-Hygiene. Vierteljahrsschr. f. ger. Med. 33, 1907, S. 370.

Wilke, Der Gesundheitszustand unter den Messingarbeitern. Medizinische Reform. Wochenschr. f. soziale Medizin 1907, S. 339.

Klocke, Das Gießfieber. Soz. Med. und Hyg. 1907, Bd. 2, S. 299.

Zadek, Die Krankheiten der Metallarbeiter in Weyls Handb. der Arbeiterkrankheiten. 1908, S. 112.

Rambousek (1), Gewerbehygiene 1909, S. 231.

K. B. Lehmann (3), Das Gieß- oder Zinkfieber. Arch. f. Hyg. Bd. 72, 1910, S. 358.

Rambousek (2), Gewerbekrankheiten in Böhmen. Concordia 1910, S. 134.

Arnstein, Beitrag zur Kenntnis des Gießfiebers. Wiener Arb. a. d. Geb. d. soz. Med. 1910, S. 49.

K. B. Lehmann und E. Francke, Sonderkatalog über die chemische Industrie und die Gesundheit. Hygiene-Ausstellung. Dresden 1911, S. 26.

Rambousek (3), Gewerbliche Vergiftungen, 1911.

C. A. Hansen, Electrochemical and metallurgical engineering 1911, Bd. 9, S. 67, zitiert nach Kisskalt und nach Grempe, Die Hygiene 1911, S. 121.

Kisskalt, Über das Gießfieber und verwandte gewerbliche Metalldampfinhalationskrankheiten. Zeitschr. f. Hyg. 71, 1912, S. 472.

Hayhurst, Gewerbliche Messingvergiftung, Messinggießerkrankheit. American journ. of the med. sciences 1913.

Bargeron, Note sur la fièvre des fondeurs. Annal. d'hyg. publ. 4. Ser. Bd. 19, 1913, S. 82.

Seiffert sen., Beteiligung von Blei und Zink am Zinkhüttensiechtum mit Bemerkungen über hygienische Maßnahmen in den Zinkhütten. „Öffentl. Gesundheitspflege" 1918, S. 144.

Rost und Weitzel, Zur Kenntnis des Vorkommens von Zink (und Kupfer) in den Ausscheidungen und Organen des Menschen und in unsern Lebensmitteln. Diese Arbeiten Bd. 51, 1919, S. 494.

K. B. Lehmann, Gewerbehygiene in Rubner, Gruber und Fickers Handbuch der Hygiene Bd. 4, 1919. Im Druck.

E. Rost, Das Zink vom physiologischen und toxikologischen Standpunkt. Berichte der D. Pharmazeut. Gesellsch. Bd. 29, 1919, Heft 7.

Beiträge zur experimentellen Pockendiagnose, zur Histologie des cornealen Impfeffekts und zum Nachweis der Guarnierischen Körperchen.

Von

Reg.-Rat **Dr. E. Ungermann**, früherem Mitglied des Reichsgesundheitsamtes, und **Dr. Margarete Zuelzer**, Ständiger Mitarbeiterin im Reichsgesundheitsamte.

(Hierzu Tafel I bis IV.)

Seit Guarnieri in der Entstehung der nach ihm benannten Einschlußkörperchen im Hornhautepithel des Kaninchens eine für das Variola-Vaccine-Virus spezifische Reaktion des experimentell infizierten Gewebes gefunden hatte, war für eine objektive, auf Versuchsergebnisse gestützte Pockendiagnose eine Grundlage gegeben. Der Guarnierische Versuch ist in der Folgezeit dann auch vielfach diagnostisch verwertet und bis in die letzte Zeit zur Sicherung der Diagnose fraglicher Fälle immer wieder empfohlen worden, so von Jochmann, Jürgens, Paschen und anderen Autoren.

Indessen hatte die Guarnierische Reaktion eine ihrer Bedeutung entsprechende allgemeine Anwendung als diagnostisches Verfahren in der Praxis bisher nicht gefunden. Ein Grund dafür ist zunächst wohl darin zu suchen, daß ein dringendes allgemeines Bedürfnis nach einer solchen experimentellen Nachweismethode der Pocken lange Zeit hindurch nicht bestand.

Die Pocken waren für uns unter normalen Verhältnissen ein überwundener Feind, gegen den unsere prophylaktischen und sanitätspolizeilichen Maßnahmen als Schutz vollkommen ausreichten. Die mitunter zutage tretende Unsicherheit der nur auf klinische Momente sich stützenden Diagnose schien deshalb der Beihilfe eines auf ätiologisch-experimenteller Grundlage fußenden Nachweisverfahrens nicht so dringend zu bedürfen. Mit der weiteren Verbreitung, welche die Pocken unter den Kriegsverhältnissen im Winter 1915/16 und im folgenden Jahre im Deutschen Reiche erlangten, trat in diesem Punkte eine Änderung ein.

Das Bild, das die Pocken in dieser Kriegsepidemie unter der gut durchgeimpften Bevölkerung Deutschlands entfalteten, zeigte die charakteristischen Merkmale der Infektion vielfach so undeutlich, daß die Diagnose in einem hohen Prozentsatz der Fälle vom klinischen Standpunkte aus überhaupt nicht gestellt werden konnte. Da aber gerade diese leichten und leichtesten Pockenfälle epidemiologisch von größter Bedeutung sind und ihre Ermittelung daher besonders wichtig erschien, war das Be-

dürfnis einer objektiven, experimentellen Pockendiagnose plötzlich ein sehr reges. Diesem Bedürfnis entsprach nun eine kurz zuvor von Paul angegebene Modifikation des cornealen Impfverfahrens. In dieser Methode war das zweite Moment, das dem allgemeinen Gebrauch der Guarnierischen Reaktion hinderlich gewesen war, die Schwierigkeit und Unsicherheit des mikroskopischen Nachweises der Einschlußkörperchen, dadurch umgangen worden, daß das Hauptgewicht bei der Diagnose auf die Darstellung und Erkennung mit bloßem Auge sichtbarer charakteristischer Herderkrankungen der Hornhaut verlegt und den mikroskopischen Veränderungen nur eine mehr sekundäre Bedeutung zuerteilt wurde. Daß die Kaninchenhornhaut nach der Impfung mit Vaccinelymphe bei der Härtung in Sublimatalkohol an den Infektionsstellen Trübungen erkennen läßt, war schon durch Hückels Untersuchungen festgestellt worden. Von Paul wurde erwiesen, daß auch Variolavirus auf der Kaninchenhornhaut Veränderungen zu erzeugen vermag, deren regelmäßig wiederkehrendes, spezifisches Bild diese Herderkrankung für diagnostische Zwecke geeignet macht.

Das Paulsche Nachweisverfahren des Pockenvirus beruht nach den Angaben des Autors darauf, daß zwei bis drei Tage nach der Impfung der Kaninchenhornhaut mit Variolamaterial spezifische Herde sich ausbilden, die durch Behandlung des enukleierten Bulbus mit Sublimatalkohol deutlich sichtbar gemacht werden können. Nach kurzem Verweilen in der Fixierungsflüssigkeit treten die im Hornhautepithel entstandenen Herdnekrosen als kreideweiße Pünktchen und kreisrunde, teils isolierte, teils konfluierende Knöpfchen zutage. Bei vorgeschrittener Entwicklung bilden sich im Zentrum dieser Herde kreisrunde, wie mit dem Locheisen ausgeschlagene Epitheldefekte heraus. Besonders deutlich sollen diese charakteristischen Veränderungen erkannt werden, wenn man die Hornhaut nach der Fixierung in Sublimatalkohol abkappt und in einem mit Alkohol gefüllten schwarzen Blockschälchen bei seitlicher Beleuchtung durch eine Nernstlampe mit einer binokulären Lupe betrachtet.

Diesem makroskopischen Bilde erkannte Paul eine so hohe Spezifizität zu, daß aus ihm allein schon in den weitaus meisten Fällen die Diagnose der Variola mit Sicherheit gestellt werden könne. Vor allem sei auf diesem Wege eine Differentialdiagnose zwischen Varicellen und der häufig so ähnlichen Variolois möglich, da die Verimpfung von Sekret aus Varicellenbläschen auf die Hornhaut niemals ein positives Resultat gegeben habe; nur bei Impetigo contagiosa, die ja mitunter im Gefolge der Varicellen auftrete, könne man nach der Verimpfung auf die Hornhaut manchmal Herde entstehen sehen, die dem Impfeffekt des Variolavirus so ähnlich seien, daß ihre Unterscheidung nur mittels der histologischen Untersuchung gelinge.

Bei der großen praktischen Bedeutung, die das im Jahre 1915 beschriebene Verfahren Pauls bald darauf in Deutschland erlangte, konnte es nicht ausbleiben, daß es gerade hier in großem Maßstabe nachgeprüft wurde und bald auch praktisch Verwendung fand. An erster Stelle wurden Untersuchungen über den Wert des neuen Verfahrens im Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" zu Berlin aufgenommen, wo sich während der Pockenepidemie mit behördlicher Unterstützung ein reiches Material ansammelte, dessen Bearbeitung es wohl gestattete, ein Urteil über den Wert der Methode zu gewinnen. Und dieses Urteil, das Gins in

mehreren Veröffentlichungen über diesen Gegenstand bekannt gegeben hat, muß im ganzen als sehr günstig bezeichnet werden.

Nach seinem letzten Bericht über die diesbezüglichen Untersuchungen im Institut für Infektionskrankheiten wurde dort bisher Material von gegen 400 Fällen verarbeitet, bei deren Mehrzahl die Diagnose mittels des Paulschen Versuches gesichert werden konnte. Von den Fällen, in welchen die klinische Diagnose auf Pocken zweifellos feststand, ergaben 80 bis 90 Prozent einen positiven Augenversuch. Es wurde festgestellt, daß auch die leichtesten Fälle von Variolois, die sich der klinischen Diagnose so oft entziehen, ebenso häufig ein positives Ergebnis liefern, wie die schweren Variolaformen, daß also der Ausfall der Paulschen Probe von der Schwere der Krankheitserscheinungen nicht abhängig sei. Windpockenmaterial habe dagegen immer negative Ergebnisse gezeitigt. Der positive Ausfall des Augenversuches sei also beweisend für Pocken, der negative soll dagegen den klinischen Verdacht nicht erschüttern. Der Tierversuch nach Paul habe erhebliche medizinalpolizeiliche Bedeutung und erscheine berufen, eine empfindliche Lücke in unseren diagnostischen Hilfsmitteln bei den Pocken zu schließen.

Auch im Reichsgesundheitsamt wurde mit Nachprüfungen des Paulschen Verfahrens bald nach den ersten Veröffentlichungen des Autors, im Dezember 1915 begonnen. Neben der praktischen Bedeutung der Methode interessierte uns vor allem auch das histologische Material, das sie bei der Verimpfung des frischen menschlichen Pockenvirus auf die Kaninchenhornhaut für Untersuchungen ätiologischer Richtung und insbesondere auch für die Frage der Guarnierischen Körperchen in reicher Menge liefern würde.

Außer diesen auf den Wert des Verfahrens und auf theoretische Fragen gerichteten Untersuchungen wurden im Gesundheitsamt später, nachdem sich die Methode in unsern Händen ebenfalls gut bewährt hatte, auch praktisch-diagnostische Feststellungen an Materialproben von pockenverdächtigen Erkrankungsfällen, die sich in einigen Bundesstaaten ereigneten, ausgeführt. Bei diesen theoretischen und praktischen Untersuchungen waren wir bestrebt, der Methode der Hornhautimpfung durch Abänderungen in dieser oder jener Richtung eine noch größere Sicherheit zu geben, vor allem einen Weg zu finden, auf dem sich die Zahl der positiven Versuchsergebnisse bei Variola noch vermehren ließe, ein Punkt, in dem das Paulsche Verfahren noch entschieden verbesserungsfähig ist. Vor allem richteten wir unsere Bemühungen auf die Technik des Nachweises der Guarnierischen Körperchen, die bisher etwas umständlich und langwierig war und auch nicht ganz sichere Ergebnisse lieferte, da bei der histologischen Durchmusterung von Pockenaugen in einem nicht unerheblichen Prozentsatz Guarnierische Körperchen nicht gefunden wurden, so daß Versuche einer diagnostischen Verwertung dieser so spezifischen Gebilde, wie schon erwähnt, allein noch nicht befriedigen konnten.

Über das Ergebnis dieser Untersuchungen soll im folgenden berichtet werden.

Die Hornhaut des Kaninchens ist bei bedeutender Größe, völliger Glätte und Durchsichtigkeit und verhältnismäßiger Unempfindlichkeit für die Beobachtung gewisser lokalisiert sich entwickelnder Infektionsprozesse ein ausgezeichnet geeignetes epitheliales Versuchsfeld. Einfache mechanische Insulte der Kaninchenhornhaut haben in der

Regel keine Geschwürsbildung zur Folge, da ihre Zellen gegen die normale Bakterienflora des Bindehautsackes im allgemeinen immun sind. Ob aber die Kaninchenhornhaut auf die Einreibung pathogener Keime aus Hautaffektionen des Menschen nicht gelegentlich mit der Bildung von Herderkrankungen reagieren könnte, die mit dem Pockenimpfeffekt Ähnlichkeit besitzen, schien uns im Hinblick auf die Frage der Spezifizität der Paulschen Reaktion einer Nachprüfung noch zu bedürfen.

Wir haben in dieser Hinsicht eine Reihe von Bakterienreinkulturen sowie von menschlichen Eiterproben nicht variolöser Herkunft unter den gleichen Bedingungen wie im Paulschen Versuch auf die Kaninchenhornhaut verimpft und erhielten in der Tat in einigen Fällen sehr starke Veränderungen. Doch waren die so erzielten Bilder in der Mehrzahl der Fälle meist ohne weiteres von dem Pockenimpfeffekt zu unterscheiden, da sie sich in der Regel diffus über die Hornhaut ausbreiteten und nicht herdförmige Veränderungen erzeugten. Nur nach der Verimpfung einer aus dem Meerschweinchen gewonnenen Pneumokokkenkultur sahen wir kleinere und größere Herde im Verlauf der Impfrisse auftreten, die mit den variolösen Impfknötchen einige Ähnlichkeit besaßen; sie waren z. T. punktförmig, gingen allmählich in das gesunde Gewebe über, saßen reihenweise in den Impfrissen der Cornea und sprangen als flache Buckel über die Hornhautoberfläche hervor. Sie unterschieden sich aber wesentlich durch ihre Sichtbarkeit schon vor der Härtung und den intensiv gelblich-weißen Farbton, den sie nach der Fixierung annahmen, von den Paulschen Impfeffekten, die ja am lebenden Auge nur durch die Abweichung der Spiegelung an der Hornhautoberfläche, nicht durch Unterschiede im Farbton und in der Durchsichtigkeit auffallen und nach der Fixierung eine milch- bis kreideweiße Farbe aufweisen. Solche isolierten kleinen Hornhautabszesse sahen wir nur noch einmal nach der Verimpfung streptokokkenhaltigen Eiters von einer Kniegelenksentzündung auftreten. Sie waren ebenfalls ohne Schwierigkeit von Pockenherden zu unterscheiden. Wir kamen daher zu dem Schluß, daß bakterielle Endzündungsprozesse im allgemeinen keine große Gefahr für Irtümer bei der Pockendiagnose nach Paul bieten, daß aber, vom theoretischen Standpunkte aus, bei ausschließlich makroskopischer Besichtigung geimpfter Hornhäute mit der Möglichkeit einer Verwechslung kleiner, noch nicht voll ausgebildeter Abszesse mit Pockenimpfeffekten doch gerechnet werden muß. Bei der Beurteilung von Schnittpräparaten kommt eine solche Verwechselung kaum in Frage, da der Pockenherd histologisch als echte Epitheliose gegenüber dem vorwiegend aus Leucocyten aufgebauten Abszeß klar und scharf gekennzeichnet ist.

Sonstige herdförmige Trübungen, die sich auch bei bloßer Ritzung des Auges mit Vorliebe um die Kreuzungspunkte der Kratzer enwickeln, Eiterflöckchen, die sich aus dem Kammerwasser an die Innenfläche der Hornhaut absetzen, werden natürlich zu Irrtümern keine Veranlassung geben, wenn der Untersucher mit diesen Dingen vertraut ist. Wenn wir damit dem Paulschen Verfahren eine praktisch ausreichende Spezifizität seiner Ergebnisse zusprechen müssen, so ist doch andererseits nachdrücklich zu betonen, daß es zu seiner Ausführung einer genauen Kenntnis der verschiedenen Irrtumsmöglichkeiten bedarf und einer eingehenden Erfahrung in der Technik des Versuches, die zur Vermeidung von Fehldiagnosen von besonderer Wichtigkeit ist.

Wir haben die technischen Einzelheiten der Paulschen Methode durch das freundliche Entgegenkommen von Herrn Dr. Gins im Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" kennen gelernt, wo Paul sein Verfahren früher selbst demonstriert hatte. Anfänglich verfuhren wir bei der Impfung unter genauer Einhaltung der Paulschen Technik. Später wichen wir in manchen Punkten davon ab, weil diese Modifikation uns sicherere Ergebnisse zu liefern schienen.

Zur Impfung wurde das vorher kokainisierte Auge des in horizontaler Lage festgebundenen Versuchstieres mit einem flachen stumpfen Instrument aus der Orbita herausgehoben, so daß es durch die Ränder der Augenhöhle und das betreffende Instrument möglichst unbeweglich gehalten wurde.

Die Ritzung der Hornhaut erfolgte mit einer harten und möglichst spitzen Impfnadel unter gleichmäßigem Druck. Von der Nadelspitze und der Sicherheit, mit der die Impfrisse gezogen werden, hängt vieles für das Ergebnis des Versuches ab. Ist die Spitze nicht völlig scharf und der Druck ungleichmäßig, so kommen durch das Federn des über die Hornhaut hingezogenen Instruments im Verlauf des Impfstriches mehr oder weniger umfangreiche und tiefe dreieckige Läsionen zustande, in deren Gebiet das Epithel von der Cornea abgerissen ist und die Verletzung häufig bis zwischen die Lamellen der Cornea eindringt. Da sich diese tieferen Wunden mit eitrigem Sekret füllen, das bei der Fixierung des Auges eine milchweiße Trübung gibt, können solche Stellen von Ungeübten gelegentlich für Pockenherde gehalten werden, wenn sie auch durch ihren eckigen Umriß leicht von den runden Pockenimpfeffekten unterschieden werden können.

Etwas tiefer in das Gewebe der Hornhaut eindringende Verletzungen beobachteten wir sehr oft auch an den Kreuzungspunkten der Impfrisse. wenn man das Auge, wie es wohl meistens geschieht, mit senkrecht zueinander stehenden Kratzern bedeckt. An diesen Stellen entwickeln sich ebenfalls gern Trübungsherde, die das Bild des Versuchsergebnisses stören können. Wir haben daher späterhin die Augen der Versuchstiere nur mit in einer Richtung verlaufenden Impfstrichen geritzt und auf diese Weise klarere Bilder erhalten, ohne daß dabei die Sicherheit der Reaktion beeinträchtigt worden wäre.

Um dem Pockenvirus möglichst zahlreiche Ansiedlungsstellen zu bieten, bedeckten wir die Hornhaut in der Regel mit einer großen Anzahl von Impfstrichen. Wir wählten als Abstand der einzelnen Impfrisse durchschnittlich einen Zwischenraum von 1—2 mm. Variolamaterial erzeugt meistens nicht so zahlreiche Herde, daß sie bei so dichter Lagerung der Impfrisse miteinander zusammenfließen und so das Bild des Ergebnisses trüben. Beim Arbeiten mit Vaccinematerial, das reichlichere Effloreszenzen zu liefern pflegt, zieht man, um gut abgegrenzte Knötchen zu erhalten, die Impfrisse besser in Abständen von 3—4 mm.

Zur Beimpfung der geritzten Augen schwemmten wir das auf Objektträgern angetrocknete Untersuchungsmaterial anfänglich mit wenigen Tropfen Glycerin-Kochsalzlösung ab, nahmen es mit einer Glaskapillare auf und tropften es unter gleichzeitigem Einreiben mittels der Fläche einer Impflanzette oder eines elastischen Spatels auf die Hornhaut. Später verwandten wir nur soviel Flüssigkeit, als zum Erweichen

und Aufschwemmen des angetrockneten Eiters zu einem dicken Brei notwendig war, den wir dann meist mit dem Objektträger selbst auf die Hornhaut übertrugen. Wir haben schließlich auch den angetrockneten Eiter ohne ihn vorher aufzuweichen direkt in die Impfkratzer eingerieben und dabei so gute Resultate erzielt, daß wir diese Art der Beimpfung, bei der das Material in konzentriertester Form auf die Hornhaut gelangt, ihr sehr innig anhaften muß und nur in geringen Spuren in die Tränenwege abfließen kann, weiterhin allein beibehalten haben. War eine Materialprobe reichlicher, so haben wir meistens beide Augen eines Kaninchens gleichzeitig damit beimpft. Die Tiere wurden einzeln in Käfige gesetzt, nach 24 Stunden besichtigt, nach 48 Stunden wurde das beimpfte Auge oder, wenn beide mit dem Material beschickt worden waren, eines davon entfernt, während das zweite entweder zur Herstellung eines frisch gefärbten mikroskopischen Präparats verwendet oder noch einige weitere Tage kontrolliert und eventuell erst später auf seinen Gehalt an Impfherden nach Pauls Methode untersucht wurde. Mitunter konnten wir schon bei der Betrachtung des noch im Tierkörper befindlichen Auges und sogar bereits nach 24 Stunden ziemlich sichere Anhaltspunkte für den positiven Ausfall des Versuchs gewinnen. Es zeigten sich dann auf der glatten, spiegelnden Hornhaut im Verlauf der Impfrisse glänzende Buckel, die sich durch leichtes Reiben weder entfernen noch verschieben oder in ihrer Form verändern ließen. Besonders beweisend erschien uns das Auftreten dieser Buckel dann, wenn mehrere perlschnurförmig nebeneinander in demselben Impfriß auftraten. 24 Stunden nach der Beimpfung sind diese mit der Lupe am lebenden Auge zu erkennenden Herde noch vielfach mit Gewebsfetzen untermischt, die sich beim Ritzen der Cornea zeitweise von ihr ablösen und dann ebenfalls flacheHocker bilden können, deren Unterscheidung von echten Variolaknötchen nicht immer leicht und sicher gelingt. Aber am zweiten Tage nach der Impfung haben sich diese Gewebsfetzen meistens schon abgelöst, so daß alsdann das Bild der Pockenknötchen auf der lebenden Hornhaut bei stark positivem Ergebnis des Versuches sehr klar in die Erscheinung tritt. Diese am lebenden Auge zu erkennenden Herde sind flach über der Cornea erhaben, sitzen ihr breit auf, sind unverschieblich, glashell, durchsichtig, frei von jeder Trübung — ein Merkmal, das sie leicht von herdförmigen Veränderungen bakterieller Natur unterscheiden läßt — und liegen fast immer im Verlauf der Impfläsionen. Wären diese Herde nach jeder Impfung gleich reichlich, so würden sie für die Diagnosestellung im Verein mit der weiter unten beschriebenen Methode des Nachweises der Guarnierischen Körperchen vollkommen ausreichen. Aber das Ergebnis der Impfungen ist sehr wechselnd und in vielen Fällen gehen auf der Hornhaut nur so spärliche Herde auf, daß sie am lebenden Auge entweder überhaupt nicht oder doch nicht mit Sicherheit erkannt werden können. Es ist daher zurzeit noch unumgänglich nötig, das geimpfte Auge zu entfernen und der Härtung mit Sublimatalkohol zu unterziehen, um kleine und spärliche Effloreszenzen sichtbar zu machen.

Für die Gewinnung eines möglichst klaren Bildes der variolösen Impfherde ist beim Herausnehmen des Auges die Beobachtung zweier Punkte von Wichtigkeit. Erstens, daß das Auge seinen Innendruck, seine normale Prallheit möglichst nicht verliert, damit die Hornhaut im ganzen auch bei der Fixierung ihre Glätte und auch

einen gewissen Grad von Durchsichtigkeit beibehält, die verloren gehen, wenn der Bulbus durch Verlust an Glaskörper schrumpft. Dabei erfolgt meistens auch eine Fältelung und Trübung der Hornhaut, so daß die kleinen Pockenherde an Deutlichkeit oft sehr verlieren. Wir haben daher die Enucleation des Auges in der Weise vorgenommen, daß der Augapfel des narkotisierten Tieres mit einer Schlinge umfaßt, diese scharf zugezogen, mehrfach festgeknotet und der Stiel des Bulbus möglichst weit hinter der umschnürten Stelle durchtrennt wurde. So vorbereitet behält der Augapfel in der Fixierungsflüssigkeit und auch bei längerer Aufbewahrung in Alkohol seine Prallheit und ist als Belegsstück und zur Demonstration gut zu verwenden. Nach erfolgter Härtung kann übrigens die Hornhaut ohne Schaden für ihre Glätte und Klarheit gekappt und für sich allein untersucht und aufgehoben werden.

Ein zweiter Punkt, der bei der Enucleation des Auges beachtet werden muß, ist die Entfernung von Blut und eitrigem Schleim von der Oberfläche der Hornhaut, bevor man das Auge in die Sublimat-Alkohol-Mischung einbringt. Diese Stoffe werden sonst oft in solcher Menge und so fest auf der Cornea fixiert, daß sie die unter ihnen liegenden Herde verdecken, oder, beim Versuch sie fortzuwischen, das Epithel mit sich nehmen. Man muß daher das enucleierte Auge alsbald unter einem sanft fließenden Wasserstrahl von den ihm anhaftenden Verunreinigungen befreien.

Zur Fixierung benutzten wir eine Mischung von 30 Teilen konzentrierter Sublimatlösung in destilliertem Wasser mit 70 Teilen 70%igen Alkohols. Das Auge muß in die Fixationslösung hineingehängt werden und nicht mit den Wänden des Behälters in Berührung kommen, weil sonst durch ungleichmäßige Fixierung Herde verschiedenartiger Trübung in der Hornhaut entstehen, die das Bild des Impfeffekts stören.

Die Eiweißfällung, welche das Hervortreten der Pockenherde bedingt, tritt in der Sublimatalkoholmischung sehr schnell ein und hat in der Regel in 1 bis 2 Minuten den erforderlichen Grad erreicht. Es ist für die Sichtbarkeit der Impfknötchen von Vorteil, die Fixierung zu unterbrechen, wenn die Hornhaut im ganzen noch durchscheinend ist, und die weitere Härtung in 70%igem Alkohol vor sich gehen zu lassen.

Das Bild der Hornhautherde, wie wir es bei unseren Untersuchungen gesehen haben, ist recht charakteristisch und entspricht im ganzen den Beschreibungen, die Paul und Gins davon gegeben haben. Die Herde treten in der milchig getrübten Hornhaut als rundliche, stärker weiß gefärbte Fleckchen von 1 bis 3 mm Durchmesser hervor. Uns ist die Farbe der Impfeffekte immer nur milchweiß erschienen, nicht so intensiv kreidigweiß, wie Paul und auch Gins sie beschreiben. Die Trübung der Flecke ist in ihrer Mitte am stärksten und nimmt von hier aus zum Rande allmählich ab. Manchmal erscheinen sie aber auch als gleichmäßig nebelartig getrübte, in der normalen Hornhaut verschwimmende Fleckchen. Niemals zeigten die Herde einen gelblichen Ton, eher waren sie als leicht bläulich zu bezeichnen. Das ist wichtig für die Unterscheidung von kleinen Hornhautabszessen, die wohl ausnahmslos gelblichweiß aussehen.

Am fixierten Präparat erschien uns die buckelartige Beschaffenheit der Pockenherde fast immer weniger deutlich als am lebenden Auge, weil dann die Spiegelung nicht so lebhaft ist als am frischen Organ. Erst bei genauerem Zusehen konnten

wir meistens erkennen, daß an der Stelle der herdförmigen Trübungen der Cornea bucklige Erhebungen sitzen, die freilich meist nur sehr flach sind. Diese buckligen Herde zeigten im Zentrum ihre höchste Erhebung. Nur sehr selten sahen wir bei Tieren, die mit Variolamaterial geimpft waren, nach 48 Stunden kleine kraterförmige Vertiefungen im Mittelpunkt der Herde. Bei längerer Beobachtungsdauer traten diese centralen Defekte häufiger auf und bei Verimpfung von Vaccinematerial auch schon nach 48 stündiger Beobachtung.

Die Herde liegen fast immer im Gebiete der Impfrisse und geben ein besonders charakteristisches Bild, wenn sie in dichter Zusammenlagerung dem Impfstrich folgen. Dieses perlschnurartige Bild des Impfeffeks ist nicht zu übersehen und in seiner spezifischen Ausbildung mit nichts anderem zu verwechseln. Nicht selten liegen aber vereinzelte Herde auch außerhalb der Impfstriche und auch diese sind uns immer als besonders charakteristisch und beweiskräftig für das Vorliegen von Variolavirus in dem Impfmaterial erschienen, weil nach unseren bisherigen Erfahrungen andere Erreger, insbesondere solche bakterieller Natur, knötchenförmige Corneaherde nur allein von den Impfkratzern aus erzeugen.

Etwas weniger typisch und schwieriger zu deuten ist das Bild des Impfeffekts in sehr stark positiven Fällen, in denen es nicht zur Bildung einzelner rundlicher Herde gekommen ist, sondern wo die Impfrisse in ihrer ganzen Ausdehnung zu Pockenherden umgewandelt sind, derart daß ihre Ränder dicht getrübt und etwas erhaben erscheinen, während der Strich selbst eingesunken ist, so daß das ganze Bild dem stark entwickelten Impfeffekt beim Menschen vergleichbar wird.

Ausnahmsweise sahen wir als extrem starke Reaktion der Hornhaut auf die Beimpfung mit frischem und reichlichem Variolamaterial Veränderungen eintreten, wie sie durch Vaccinelymphe erzeugt werden. In solchen Fällen erschien die gesamte Conjunctiva corneae als eine gleichmäßig geschwollene und getrübte Fläche, in welcher nirgends herdförmige Verdichtungen, sondern nur die Impfkratzer als feine Risse hervortraten. Derartige Bilder sind schwer zu deuten, sie können bei oberflächlicher Betrachtung sogar als negativ angesprochen werden, und erscheinen, da sie stets mit erheblichen conjunktivitischen Veränderungen einherzugehen pflegen, immer einer Veranlassung durch bakterielle Erreger verdächtig. Wir wurden bei diesen schweren Veränderungen des Auges dadurch auf die richtige Deutung geführt, daß das zweite, mit dem gleichen Material geimpfte Auge mitunter ebenfalls schwere, aber doch noch typische Veränderungen aufwies und daß wir in der diffus erkrankten Hornhaut Guarnierische Körperchen nachweisen konnten.

Solche durch extrem starke Reaktion Anlaß zu Schwierigkeiten bietende Fälle sind indessen sehr selten. Viel häufiger ist das Gegenteil, wo die Herde so spärlich und klein bleiben, daß man in Zweifel gerät, ob die Reaktion noch als positiv angesprochen werden soll. Auf einen einzigen Herd hin, und mochte er auch typisch gebaut sein, haben wir bei der makroskopischen Betrachtung nie ein positives Urteil abgegeben. Unter diesen Umständen werden einzelne Fälle wohl immer unentschieden bleiben müssen. Zur Herbeiführung einer Entscheidung gibt es in solchen Fällen zwei Wege — die histologische Untersuchung und die

längere Beobachtung des mit dem gleichen Material geimpften zweiten Auges. Der Nachweis der Guarnierischen Körperchen mittels der Schnittmethode ist aber gerade bei spärlicher Herdentwicklung wenig aussichtsreich und kann wohl nur durch einen glücklichen Zufall zum positiven Ergebnis führen. Günstiger sind die Aussichten, Guarnierische Körperchen auf der schwach infizierten Cornea mittels der Frischfärbung des abgekratzten gesamten Epithelbelages nachzuweisen. Am besten aber wird man in solchen Fällen zur Sicherung der Diagnose eins der geimpften Augen 72 oder 96 Stunden beobachten, bevor man es enucleiert und weiter behandelt. Je reicher an Virus eine Materialprobe ist, um so schneller zeigen sich auf der damit geimpften Cornea die spezifischen Herde. Sind die Erreger aber nur in spärlicher Menge vorhanden, so bilden sich die Effloreszenzen mitunter erst am 3. oder 4. Tage nach der Impfung aus. Davon kann man sich leicht durch Verimpfung von Lympheverdünnungen auf die Kaninchencornea überzeugen. Ein mit konzentriertem Material beimpftes Auge läßt meist 24 Stunden später schon deutliche Vaccineeffloreszenzen erkennen, während eine Verdünnung von 1 : 100 vielleicht am zweiten Tage, eine solche von 1 : 1000 innerhalb von 3 oder 4 Tagen ein etwa ähnliches Bild auf der Hornhaut erzeugt. Ein durch den Einfluß der Zeit oder durch andere Umstände abgeschwächtes Vaccinevirus verhält sich in dieser Hinsicht ähnlich wie verdünntes vollvirulentes Material. Variolapusteleiter ist den Zellen der Kaninchenhornhaut gegenüber etwa ebenso virulent, wie verdünntes oder abgeschwächtes Vaccinevirus. Das zeigten uns mehrere Fälle, in denen wir nach dem 48 stündigen Bilde der beimpften Hornhaut eine negative, dagegen nach dem Bilde des 4 Tage beobachteten zweiten mit dem gleichen Material beimpften Auges eine positive Diagnose stellen konnten.

Nach diesen Erfahrungen möchten wir für die Praxis der Diagnose nach Paul folgendes, von uns schließlich endgültig angenommenes Verfahren empfehlen: Es werden beide Augen eines Kaninchens mit dem Material des zu untersuchenden Falles beimpft; das eine Auge wird nach 48 Stunden enucleiert und an dem fixierten Präparat die Diagnose nach Paul versucht; fällt sie positiv aus, so wird bei dem zweiten Auge der Nachweis der Guarnierischen Körperchen im frischgefärbten Zupfpräparat zu führen versucht, um die Diagnose vollends zu sichern. Ist das Ergebnis dagegen negativ, so wird das zweite Auge noch weitere 24 Stunden beobachtet, dann enucleiert, und falls jetzt typische Herde nachgewiesen werden können, zum Nachweis der Guarnierischen Körperchen im Schnittpräparat verarbeitet.

Die Diagnose mittels des Paulschen Verfahrens ist oft sehr leicht, mitunter aber auch recht schwierig. Leicht und sicher ist die Deutung aller Fälle mit mittelschwerer, typischer Herdbildung, schwerer bei excessiver Reaktion der Cornea, sehr schwierig und manchmal unmöglich an der Grenze des positiven Ausfalles und in den Fällen, in welchen interkurrierende andersartige Erkrankungen der Hornhaut das Bild der Reaktion trüben. Für die praktische Ausübung des Paulschen Verfahrens ist eine genaue Kenntnis seiner Technik und der Schwierigkeiten und Irrtumsquellen der Methode erforderlich, die nur durch eine gründliche praktische Ausbildung erworben werden kann.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen mit dem Paulschen Verfahren lassen sich nur schwer von einem einheitlichen Standpunkte aus beurteilen, da nicht nur

unsere Technik sich änderte, im Laufe unserer Versuche verbessert wurde, sondern auch das Material, das uns bisher zur Verfügung stand, von sehr wechselnder Beschaffenheit und daher auch wohl für die Anstellung der Reaktion recht ungleichmäßig geeignet war.

Hier soll zunächst nur über unsere ersten Erfahrungen berichtet werden, die 121 Fälle von Pocken und Pockenverdacht umfassen. Den weitaus größten Teil dieses Materials, nämlich 86 Fälle, verdankt das Gesundheitsamt dem Entgegenkommen des Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch", das uns aus seinem reichen Material eine beliebige Auswahl doppelt eingeschickter Eiterausstriche von Pockenfällen und anderen Hauterkrankungen ohne nähere Angaben über die Herkunft des Materials und das Ergebnis seiner Untersuchung überließ. Durch eine solche zweifache, voneinander unabhängige Prüfung des gleichen Materials an verschiedenen Stellen schien uns die Frage, in wieweit etwa Verschiedenheiten der Impftechnik, des Materials und der Versuchstiere sowie Abweichungen in der Deutung der Befunde die Ergebnisse und damit den Wert der Methode zu beeinflussen vermögen, am leichtesten geklärt werden zu können.

Bei der nachträglichen Vergleichung der Versuchsergebnisse stellte es sich heraus, daß im Institut für Infektionskrankheiten ungefähr 75% der an uns abgegebenen Proben ein positives Ergebnis geliefert hatten, während wir nur in 66% die Diagnose auf Pocken stellen konnten. Und zwar wurden 60 Materialproben von klinisch sicheren Pockenfällen im Institut für Infektionskrankheiten 55 mal, 12 Proben von fraglichen Varioloisfällen 9mal, 12 Varicellenpustelausstriche 1mal mit positivem Ergebnis, 2 Proben von anderen Hautaffektionen mit nur negativem Resultat untersucht, während wir bei demselben Material 51, 5, 1 und 0mal zu einem positiven Ergebnis gelangten.

Das Resultat der beiden Untersuchungsreihen stimmt wohl hinreichend überein, um zu beweisen, daß dem Paulschen Nachweisverfahren ein erheblicher diagnostischer Wert zukommt, der auch unter so strengen Bedingungen der Nachprüfung wie sie n unseren Parallelversuchen obwalteten, klar zutage tritt.

Aus dem Gesamtergebnis verdienen zwei Tatsachen hervorgehoben zu werden: die merklich geringere Zahl der positiven Ergebnisse bei unseren Versuchen und der positive Ausfall einer, und zwar derselben, Varicellenmaterialverimpfung in beiden Reihen.

Was den Unterschied in der Prozentzahl der positiven Ergebnisse anlangt, so zeigt derselbe zunächst, daß dem negativen Ausfall des Paulschen Verfahrens jedenfalls keine absolute diagnostische Bedeutung zukommt. Als Ursache des verschiedenen Ausfalls der Probe kommt an erster Stelle wohl ein Unterschied im Virusgehalt des Impfmaterials in Betracht. Zunächst kann schon die Menge des Pusteleiters, der auf dem Objektträger verstrichen wird, an sich sehr wechseln. In der Tat dürfte das negative Resultat manches unserer Versuche auf die Spärlichkeit des Materials zurückzuführen sein, da manche der uns zur Verfügung gestellten Ausstriche nur einen zarten Hauch auf dem Objektträger bildeten. Derartige Materialproben sind natürlich von vornherein weniger aussichtsreich für die Untersuchung. Die Ausstriche müssen vielmehr in möglichst dicker Schicht angefertigt werden, nicht nur der absoluten Menge wegen, sondern auch mit Rücksicht auf die größere Widerstandsfähigkeit, die

das Virus unter diesen Umständen gegenüber der Einwirkung der Luft und sonstiger physikalischer Faktoren entfalten dürfte. Denn auf eine Abnahme der Infektiosität der Materialproben unter diesen Einflüssen möchten wir die geringere Zahl der von uns erzielten positiven Befunde in erster Linie zurückführen. Infolge der ganzen Anordnung der gemeinsamen Untersuchungen konnte das Material im Gesundheitsamt erst eine gewisse Zeit später als im Institut für Infektionskrankheiten zur Verarbeitung gelangen, durchschnittlich mehrere Wochen später, manchmal aber auch erst nach zwei bis drei Monaten. Fast alle der von uns im Gegensatz zum Institut „Robert Koch" negativ befundenen Fälle gehören zu einer Gruppe von Untersuchungen, die an den beiden Stellen mit großer zeitlicher Differenz zur Ausführung gelangt waren.

In dick eingetrockneten Pockenborken behält der Variolaerreger seine infektiöse Kraft viel länger als im dünnen Eiterausstrich. Wir konnten mit einer dieser schildförmigen Krusten, die von einem Pockenrekonvalescenten gewonnen worden waren, noch 15 Monate später ein positives Impfresultat auf der Kaninchencornea erhalten, wenn wir das in etwas Glycerin-Kochsalzlösung verriebene Material auf die geritzte Hornhaut verimpften. Vielleicht beruht diese starke Infektiosität der Pockenborke auf ihrem verhältnismäßig hohen Virusgehalt; es ist wohl möglich, daß der Pockenerreger in den Epithelzellen der Pockenpustel, die in der Pockenborke mit enthalten sind, in größerer Menge vorhanden ist als in dem vorwiegend aus Eiterzellen bestehenden Pustelinhalt, der bei der Anfertigung von Materialausstrichen fast vorwiegend zur Verwendung gelangt. Noch wahrscheinlicher aber ist, daß die infektiöse Kraft des Erregers in der Pockenborke durch die Dicke der umhüllenden Zellschicht geschützt wird. Daraus ergibt sich für die Praxis der experimentellen Pockendiagnose die Forderung, das Material so dick wie möglich auf den Objektträger auszustreichen, um dem Virus auch für die kurze Zeit bis zu seiner Verimpfung auf die Cornea in der Tiefe der Schicht einen vor der Einwirkung der Luft und anderen Einflüssen möglichst geschützten Platz zu verschaffen.

Die Eintrocknung des Impfmaterials als solche dürfte, sofern es sich nicht um eine zu dünne Schicht handelt, für die Spezifizität der Reaktion sogar vorteilhaft sein, weil durch sie die Infektiosität des Pockenerregers in geringerem Grade herabgesetzt wird als die der im Pustelinhalt etwa mit anwesenden bakteriellen Keime.

Das zweite auffallende Ergebnis der beiden Untersuchungsreihen, der positive Ausfall mit dem Material eines Varicellenkranken ist von besonderem Interesse für die Beurteilung des Wertes der Paulschen Probe. Es könnte daraus geschlossen werden, daß bei der Methode nicht nur im negativem Sinne, sondern auch nach der positiven Seite Fehldiagnosen vorkommen können. Aus dem einen Falle lassen sich allerdings sichere Schlüsse wohl kaum ziehen, da die klinische Auffassung eines einzelnen Falles gerade bei den Pocken einen gewissen Spielraum bietet. Nach der Deutung, die Gins diesem Falle gegeben hat, ist die Ursache der paradoxen Reaktion ein Irrtum in der klinischen Diagnose. Es handelte sich danach um eine Erkrankung an Variolois, die das Bild der Varicellen vortäuschte, also gerade um einen der wichtigen Fälle, in denen das Paulsche Verfahren seinen Wert zu beweisen haben wird, und diesmal, wenn die Annahme richtig war, auch bewiesen hat. Der vereinzelte Fall läßt diese

Erklärung durchaus zu. Andererseits muß aber doch die Möglichkeit anerkannt werden, daß auch andere Virusarten unter Umständen Herdveränderungen auf der Hornhaut erzeugen, die von den durch den Pockenerreger bedingten nicht ohne weiteres zu unterscheiden sind, um so mehr, als der Pockenimpfeffekt, wie hier vorweggenommen werden mag, nicht etwa aus spezifischen Elementen sich aufbaut und durch sie in die Erscheinung tritt, sondern aus Zellen, die der Proliferation und Degeneration des Hornhautepithels im allgemeinen eigen sind. Daß z. B. Material aus Impetigo-Pusteln ähnliche Hornhautherde erzeugt, wird schon von Paul erwähnt. Dabei soll es sich allerdings um eine Abszeßbildung handeln, während der Impfeffekt bei Variola-Vaccine als eine durch lokale Zellvermehrung erzeugte echte Epitheliose gekennzeichnet ist. Vom theoretischen Standpunkte aus ist es aber wohl denkbar, daß unter Umständen auch einmal echte Proliferationsvorgänge am Epithel durch andere Virusarten auf der Kaninchenhornhaut hervorgerufen werden können.

Bei Berücksichtigung dieser Möglichkeit könnte man daran denken, die positive Fehldiagnose mit dem Paulschen Verfahren bei Windpocken, über die in letzter Zeit auch Schlautmann berichtet hat, in der Tat auf ein Versagen der Spezifizität der Paulschen Reaktion zurückzuführen. Daß die Verimpfung von Varicellenpustelinhalt für das Hornhautepithel nicht gleichgültig ist, sondern echte Proliferationsvorgänge auslöst, wird schon durch den Befund zahlreicher Riesenzellen in der mit solchem Material beimpften Cornea, den Gins erhoben hat, bewiesen. Es ist daher nicht so ganz unberechtigt, anzunehmen, daß diese Zellenneubildung gelegentlich einmal zur Entstehung makroskopisch sichtbarer Herde führen kann. Theoretisch wäre ein solches Vorkommen spezifischer Varicellenimpfeffekte von hohem Interesse, für die Praxis des Paulschen Verfahrens allerdings sehr störend. Wahrscheinlicher ist uns aber doch die Annahme, daß diese seltenen Fälle einer positiven Hornhautreaktion bei Windpocken auf dem Vorliegen echter Pocken oder mehr zufälligen, vielleicht bakteriellen Beimengungen zum Varizelleneiter beruhen mögen.

Die 35 weiteren Fälle, in denen wir Material von Pocken oder pockenverdächtigen Erkrankungen dem Paulschen Verfahren unterziehen konnten, verteilen sich auf 23 Fälle, in denen die Eiterausstriche dem Gesundheitsamt zur Diagnosestellung übersandt worden waren, und 12 Fälle von Pockenerkrankungen, die in Berliner Krankenhäusern Aufnahme gefunden hatten. In allen diesen Fällen stand uns reichliches und frisches Material zur Verfügung, daher war der Prozentsatz der positiven Ergebnisse in dieser Gruppe ein erheblicher.

Von den 12 Pockenfällen, in denen wir selbst Material entnommen haben, gaben alle bis auf einen eine positive Reaktion. Dieser eine Fall war eine schwere, nicht ganz eindeutige Erkrankung bei einem achtzehnjährigen Mädchen, das im Verlaufe von drei Tagen unter hochfieberhaften Krankheitserscheinungen starb. Auf der Haut fanden sich einzelne frische pockenähnliche Pusteln, deren reichlicher serös-eitriger Inhalt nach der Verimpfung auf zwei Kaninchenaugen ein völlig negatives Ergebnis lieferte. Die Deutung dieses Falles ist unsicher, es ist möglich daß eine andere akute Infektion vorlag, obwohl die bakteriologische Untersuchung keinen Anhaltspunkt dafür lieferte. Wenn es sich aber tatsächlich um eine Pockenerkrankung gehandelt hat,

so gehört der Fall zu der schon von Gins hervorgehobenen Gruppe, in welcher gerade schwerste Erkrankungsfälle ein auf dem Kaninchenauge nicht angehendes Pustelmaterial liefern. Dieses negative Resultat erscheint im Vergleich mit dem meist stark positiven Ergebnis der Verimpfung von Varioloispustelinhalt besonders bemerkenswert.

Die dritte Gruppe von 23 Eiterproben, die dem Gesundheitsamt in der Zeit vom April 1917 bis zum Juli 1918 aus verschiedenen Bundesstaaten zur Diagnosestellung übersandt wurden, umfaßt ein klinisch ziemlich schwer zu bewertendes Material, da es sich ja meistens um fragliche Fälle handelte, die zum Teil auch im weiteren Verlauf ungeklärt blieben.

Von den 8 klinisch als Variola oder Variolois gedeuteten Fällen dieser Gruppe gaben 5 eine positive Paulsche Reaktion, von den 14 als pockenverdächtig angesprochenen Fällen lieferten 2 ein positives und einer ein unsicheres Ergebnis; die übrigen waren negativ. Ein Fall von Arzneiexanthem, das für Variolois gehalten worden war, verhielt sich bei der Prüfung nach Paul ebenfalls negativ. Von den 8 Materialproben, die uns bis zum Juli 1917 eingesandt worden waren, lieferten 6, also 75%, einen positiven Paulschen Versuch, von den 15 später zugeschickten nur ein einziger Fall, also 6,6%. Aus dem Vergleich dieser Zahlen, deren Grundlage ja allerdings recht klein ist, mit dem zeitlichen Verlauf der Epidemie, die im Sommer 1917 erlosch, ergibt sich doch wohl auch ein gewisser Anhaltspunkt für die Spezifizität und den diagnostischen Wert des Paulschen Versuches.

Ein Hauptvorzug des Paulschen Nachweisverfahrens beruht, wie schon gesagt wurde, auf dem Umstande, daß es sich an makroskopisch sichtbare Veränderungen hält und auf den Nachweis des spezifiischen mikroskopischen Elementes der Pockenherde, das Auffinden der Guarnierischen Körperchen, zunächst verzichtet. Unsere Angaben über das im vorstehenden gekennzeichnete Material beziehen sich nur auf die mit bloßen makroskopischen Hilfsmitteln arbeitende Paulsche Methode. Auf die Technik des Nachweises der Einschlußkörperchen, wie wir sie im Verlauf der Versuche zu einer einfachen und schnell auszuführenden Methode ausgearbeitet haben, wird weiter unten eingegangen werden.

Da die Kaninchencornea nach den übereinstimmenden Versuchsergebnissen ein so empfindliches Reagens auf das Pocken- und Vaccinevirus darstellt, mußte alsbald an die Verwendung des Paulschen Versuches auch zum Nachweise des Pockengiftes in anderen Materialien als im Pustelinhalt gedacht werden. Von besonderer Wichtigkeit erschien mit Rücksicht auf epidemiologische Fragen der Nachweis des Pockenvirus in den Ausscheidungen der Variolakranken. Im Sputum muß man die Gegenwart des Pockenvirus bei der oft so reichlichen Eruption von Pockenpusteln auf der Schleimhaut der Respirationswege von vorneherein annehmen. Mit diesem Material mußte der Nachweis des Virus gelingen, wenn es nicht so stark verdünnt zur Ausscheidung gelangte, daß es zur Erzeugung der spezifischen Effekte der Kaninchencornea nicht mehr konzentriert genug war. Dieselbe Möglichkeit war auch für den Speichel der Kranken gegeben, obwohl hier die Aussichten auf ein positives Impfergebnis durch die sehr beträchtliche Verdünnung nicht so groß waren. Noch geringer erschien die

Möglichkeit, das Virus im Urin und Stuhl von Pockenkranken und im Staub und an der Oberfläche der Gegenstände des Krankenzimmers mittels des Paulschen Versuches nachzuweisen. Weiterhin konnte man auf diesem Wege Aufschluß über die immer noch nicht ganz geklärte Frage erhoffen, ob das Pockenvirus eine allgemeine Blut- und Organinfektion erzeugt, oder ob es etwa nur im Deckepithel des Körpers seinen einzigen Sitz hat. Wir haben mit Untersuchungen in dieser Richtung bereits im März 1917 begonnen, sie sind indessen auf ein geringes Material beschränkt geblieben, haben aber trotzdem einige bemerkenswerte Ergebnisse gehabt, über die hier kurz berichtet werden soll.

Von einem Kranken im achten Tage nach der Eruption des Exanthems, dessen Material dem Gesundheitsamte seitens des Virchowkrankenhauses durch Herrn Professor Friedemann gütigst zur Verfügung gestellt worden war, wurden das spärliche eitrige Sputum, sowie Urin und Blut auf die Kaninchencornea verimpft. Die mit Sputum geimpften Augen zeigten nach 48 Stunden beide typische Paulsche Herde. Der Befund an den mit dem spärlichen leucocytenhaltigen Urinsediment beimpften Augen war dagegen negativ. Die Impfung mit dem Gesamtblut, das durch einen Zusatz von Natriumcitrat flüssig gehalten worden war, hatte kein sicheres Ergebnis, indem wohl Trübungen im Verlauf der Impfrisse auftraten, die aber nicht die charakteristische rundliche Herdform, sondern mehr eine diffuse Ausbreitung zeigten. Guarnierische Körperchen konnten in diesen getrübten Hornhautstellen nicht gefunden werden.

In einem anderen Falle bei einer im fünften Krankheitstage stehenden Frau ergab die Verimpfung des Auswurfes auf Kaninchenaugen ebenfalls ein einwandfreies positives Resultat. Der Urin erwies sich wiederum nicht infektiös. Dagegen waren in diesem Falle die Impfungen mit dem Blut der Patientin erfolgreich und zwar sowohl mit der leucocytären Schicht, die man beim Absetzen des Natriumcitratblutes bei niederer Temperatur erhält, wie mit dem vorwiegend aus roten Blutkörperchen bestehenden Bodensatz. Das Ergebnis mit dem leucocytären Anteil war aber deutlich stärker positiv als das mit dem Erythrocytenanteil. Obwohl wir bei 5 anderen Verimpfungen von Blut negative Resultate erhielten, glauben wir doch aus dem einen sicher positiven Ergebnis schließen zu dürfen, daß das Pockenvirus in der Tat im Blute kreisen kann, wenigstens in gewissen Stadien der Krankheit, wenn auch nur verhältnismäßig selten in einer Konzentration, die zur Hervorbringung von Augenherden beim Kaninchen ausreicht. Daß empfindlichere Versuchstiere die Gegenwart des Pockenvirus im Blut mit größerer Regelmäßigkeit anzuzeigen vermögen, scheinen die Untersuchungen von Kyrle und Morawetz zu beweisen, die nach intravenöser Verimpfung von Pockenblut auf Affen eine Erkrankung der Versuchstiere beobachteten, sogar noch bei Kranken im Stadium exsiccationis.

Insgesamt haben wir bei 5 Versuchen dieser Art mit Blut einmal und mit Auswurf zweimal positive Ergebnisse erzielt. Wie schon erwähnt, hängt das Gelingen dieser Versuche von der Konzentration des Virus wesentlich ab. Daß aber im Prinzip der Paulsche Versuch einen Weg zum Nachweise auch spärlicher Virusmengen in beliebigem Material darstellt, steht für uns danach außer Zweifel und wird auch

durch den wichtigen, von Friedemann und Gins veröffentlichten Befund des Pockenerregers im Sputum eines Rekonvaleszenten bezeugt, der den hohen Wert des Paulschen Untersuchungsverfahrens besonders klar erkennen läßt.

Mit der Verimpfung von Leichenmaterial und zwar von Milz, Blut, Lunge und Lymphdrüsen haben wir in drei Fällen durchaus negative Ergebnisse erzielt. Wir möchten aber bei der geringen Zahl dieser Untersuchungen keinen bestimmten Schluß aus diesen Ergebnissen ziehen. Denn bei Kaninchenorganen ist uns der Nachweis von Vaccinevirus auf diesem Wege einmal gelungen. Wir beobachteten öfters, daß Kaninchen, insbesondere junge Tiere, nach der kutanen oder intravenösen Impfung mit einem Lapinepassagestamm unter dem Bilde einer fieberhaften Allgemeininfektion in 3—5 Tagen eingingen, ohne daß sich im Blut und in den Organen Bakterien als Krankheitsursache nachweisen ließen. Über den Verdacht, daß diese Todesfälle durch eine echte Vaccineinfektion hervorgerufen worden seien, versuchten wir ebenfalls mit dem Paulschen Verfahren ins Klare zu kommen, indem wir Herzblut, Milz und Knochenmark auf die Augen gesunder Kaninchen verimpften. Unter 4 in dieser Weise geprüften Fällen erhielten wir bei einem positive Resultate. Von einem jungen, nach kutaner Impfung mit Lapine eingegangenen Kaninchen erzeugten Herzblut und Milzpulpa deutliche Paulsche Knötchen auf der Hornhaut, in welcher mittels der Schnittmethode auch Guarnierische Körperchen nachgewiesen werden konnten.

Die Empfänglichkeit des Kaninchenauges für das Vaccinevirus auch in hohen Verdünnungen, denn der Virusgehalt des Blutes und der Organe nach kutaner Impfung eingegangener Tieres dürfte wohl nur gering sein, ließ uns daran denken, den Paulschen Versuch auch für die Bestimmung der Wertigkeit von Vaccinelymphe zu benutzen.

Die infektiöse Kraft einer Lymphe steht in erster Linie wohl mit ihrem Virusgehalt in Zusammenhang. Je reichlicher aber das Virus in einer Lymphe vorhanden ist, in umso stärkeren Verdünnungen wird das Material auf dem Kaninchenauge noch einen positiven Impfeffekt hervorzubringen vermögen. Da das Kaninchenauge nun an sich für das Vaccinevirus hochempfänglich ist, das Paulsche Nachweisverfahren aber die Erkennung auch vereinzelter Herde ermöglicht, muß es einen sehr guten Anhaltspunkt für die Beurteilung der Wirksamkeit einer Lymphe geben können, vorausgesetzt, daß die Infektiosität des Virus, wie wohl angenommen werden kann, für das Kaninchenauge und die menschliche Haut in Parallele gesetzt werden dürfen. Ob sich das in der Tat so verhält, werden praktische Versuche zu entscheiden haben. Von der Eignung der Paulschen Methode für die Feststellung der Wertigkeit einer Lymphe und für die Erkennung von Virulenzschwankungen haben wir uns auf experimentellem Wege wiederholt überzeugen können.

Frische Vaccinelymphe fanden wir meist noch in sehr bedeutender Verdünnung für die Kaninchencornea infektiös. In einem Falle erhielten wir sogar bei der Verimpfung einer Verdünnung 1 : 10000 ein positives Resultat. Allerdings dauert es, wie oben erwähnt wurde, bei der Infektion mit so stark verdünntem Virus länger bis zum Auftreten sichtbarer Herde, sie erscheinen erst im Verlauf des 3. bis 4. Tages nach

der Impfung, sind dann aber mitunter ziemlich reichlich und geben einen sehr typischen Anblick. Als dieselbe hochwertige Lymphe nach zweimonatiger Aufbewahrung bei mäßig niedriger, vielfach wechselnder Temperatur einer nochmaligen Auswertung im Augenversuch unterzogen wurde, fanden wir, daß jetzt nur noch bei der Verdünnung 1 : 1000 ein sicher positives Resultat erzielt wurde, während die Verdünnung 1 : 2000 ein unsicheres und die Verdünnung 1 : 10000 ein ganz negatives Ergebnis lieferte.

Hier hatte also eine Lymphe in verhältnismäßig kurzer Zeit ums 10fache ihrer Wirksamkeit abgenommen. Die Abschwächung dieser Lympheprobe machte sich auch bei der kutanen Infektion des Kaninchens geltend, wo sie anfänglich ein sehr reichliches Papel- und Krustenmaterial lieferte, zwei Monate später dagegen nur ein eben gerade deutliches positives Resultat ergab. Die genauere Erprobung der Brauchbarkeit der Paulschen Methode für die Auswertung der Vaccinelymphe dürfte den Lymphgewinnungsanstalten vorbehalten bleiben. Wir möchten hierdurch nur zu solchen Untersuchungen angeregt haben.

Eine gewisse Schwierigkeit erwuchs der Ausübung des Paulschen Versuches zu der Zeit, als die Materialproben in besonders großer Menge zur Untersuchung kamen, in dem Mangel an Kaninchen, der sich unter den Kriegsverhältnissen immer fühlbarer machte. Wir haben uns daher mit der Frage beschäftigt, ob sich vielleicht das Meerschweinchen, dessen Empfänglichkeit für Vaccinevirus ja schon lange bekannt ist, als Versuchstier für die Paulsche Augendiagnose eignete, was ja auch im Hinblick auf den Kostenpunkt der praktischen Untersuchungen von einigem Wert sein würde.

In der Tat erhielten wir nach der Verimpfung von Pockenpusteleiter auf die geritzte Hornhaut des Meerschweinchens ähnliche Herderkrankungen wie beim Kaninchen, kleine, erst nach der Fixierung mit intensiv weißer Farbe hervortretende Pünktchen, die im Vergleich mit den Impffloreszenzen des Kaninchens verhältnismäßig etwas stärker, mehr papelförmig, aus der Hornhautfläche heraussprangen. Diese kleinen Herde bildeten sich auf dem Meerschweinchenauge ebenfalls vorwiegend im Verlauf der Impfkratzer aus, waren aber meist weit weniger zahlreich als die mit dem gleichen Material auf der Kaninchenhornhaut erzeugten Impfknötchen, so daß eine perlschnurähnliche Anordnung in der Regel nicht beobachtet werden konnte. Die Herde sind beim Meerschweinchen ebenfalls am zweiten Tage nach der Impfung schon deutlich zu erkennen, treten darauf aber bald zurück, da sie an Umfang nicht wesentlich zuzunehmen und von den starken allgemeinen Entzündungserscheinungen verdeckt zu werden pflegen, in die das Meerschweinchenauge im Gefolge der Pockenknötcheneruption alsbald gerät. Diese Neigung zu diffusen Entzündungen ist ein großer Nachteil der Meerschweinchenhornhaut, besonders da sie manchmal schon 24 oder 48 Stunden nach der Impfung hervortritt und dann die Beobachtung der Herde sehr erschwert. Auch unspezifischen Entzündungsvorgängen bietet das Meerschweinchenauge einen geringeren Widerstand als das Auge des Kaninchens.

Dem mikroskopischen Bau nach handelt es sich bei den Hornhautherden des Meerschweinchenauges wie beim Kaninchen im wesentlichen um einen Proliferations-

prozeß des Epithels. Für den spezifischen Charakter dieser Wucherung sprachen Einschlußkörperchen, die wir in einigen Fällen im Schnittpräparat finden konnten und die den Guarnierischen Körperchen der Epithelzellen des Kaninchens im ganzen durchaus entsprachen.

Wir können aus unseren Versuchen am Meerschweinchenauge den Schluß ziehen, daß es ebenfalls für die Infektion mit Variolavirus empfänglich ist und die Ausführung des Paulschen Versuches gestattet. Aber die größere technische Schwierigkeit des Arbeitens am Meerschweinchenauge und seine Neigung zu diffusen und manchmal auch unspezifischen Trübungen macht die Erkennung der spezifischen Veränderungen wesentlich schwieriger und die Deutung unsicher, so daß es wohl nur im Notfall als Ersatz für das Kaninchenauge wird benutzt werden können.

Wie oben ausgeführt wurde, gibt im allgemeinen schon der makroskopische Nachweis der spezifischen Pockenherde auf der Kaninchenhornhaut einen sehr wertvollen und praktisch meistens ausreichenden Anhalt für die Diagnose der Variola. Die Fehlerquellen und Irrtumsmöglichkeiten sind bei der makroskopischen Pockendiagnose nach Paul nicht allzu groß. Trotzdem ist der mikroskopische Nachweis spezifischer Elemente im einzelnen Falle zur weiteren Sicherstellung der Diagnose doch ebenso wünschenswert, wie der Nachweis der Tuberkelbacillen in dem an sich so charakteristischen Tuberkelknötchen.

Mittels der histologischen Untersuchung kann man, wie bekannt, einmal ein für den Variola-Vaccineprozeß typisches Gesamtbild der beimpften Hornhaut und schließlich das Vorhandensein der Guarnierischen Körperchen feststellen, die für die Pockenepitheliose bis jetzt als ein absolut sicheres und beweisendes diagnostisches Merkmal angesehen werden können.

Zur Ausführung der mikroskopischen Diagnose ist das nach der Paulschen Methode beimpfte Kaninchenauge ohne weiteres geeignet.

Zur Fixierung der Cornea haben wir meistens gemäß der Paulschen Vorschrift Sublimatalkohol mit gutem Erfolg für die histologische Verarbeitung des Materials benutzt, gelegentlich auch Flemmingsche oder Zenkersche Lösung nach der Empfehlung von Hückel, Prowazek, Paschen u. a. Autoren.

Das Schneiden und Färben der ganzen Hornhaut ist mühsam und keineswegs immer von Erfolg begleitet. Es ist daher ratsam, nach dem Beispiele Hückels die verdächtigen Herde aus der beimpften Cornea auszuschneiden und einzeln einzubetten. Für die Paraffineinbettung benutzten wir die übliche Technik. Paul empfiehlt neuerdings ein beschleunigtes Verfahren, bei welchem Einbettung, Schneiden und Färben in einer Stunde durchgeführt werden können. Wir haben mit dieser Methode häufig geschrumpfte Bilder erhalten, die zwar für den Nachweis der Guarnierischen Körperchen meistens genügten, aber zur Erkennung von Einzelheiten an den Zellen und ihren Einschlüssen hinter der weiter unten beschriebenen schneller und einfacher arbeitenden Frischfärbemethode zurückstehen.

Bei der Paraffineinbettung der Hornhaut verwandten wir als Lösungsmittel für das Paraffin Chloroform anstelle des Xylols, da letzteres die Cornea zu spröde macht, so daß sie beim Schneiden häufig herausspringt.

Zur Färbung der Schnitte bewährten sich uns so ziemlich alle guten Kernfärbungen, so Haematoxylin (Delafield und EH) oder Karminlösungen (Alaunkarmin und Pikrokarmin). Wir erhielten mit einfachen Kernfärbungen oft besonders klare Bilder, da sich die Guarnierischen Körperchen ja wie die Kerne färben. Übersichtlichere Bilder bekommt man allerdings durch Nachfärbungen mit Plasmafarbstoffen wie Orange, Eosin und dem Van Giesonschen Gemisch. Die kontrastreichsten Färbungen der Zellen und ihrer Einschlüsse liefern aber die kombinierten Färbemethoden, welche nicht nur Kerne, Zellplasma und Zelleinschlüsse in verschiedenen Tönen färben, sondern auch durch die differente Färbung der beiden chromatischen Komponenten die Erkennung feinerer Unterschiede im Bau der Guarnierischen Körperchen ermöglichen. Von solchen kombinierten Färbungen haben wir besonders Ehrlich-Biondis Triacidlösung und die Flemmingsche Dreifachfärbung angewendet. Auch die Giemsafärbung mit nachfolgender Acetondifferenzierung ergibt gute, kontrastreiche Bilder. Sehr interessante Einzelheiten lieferte weiterhin auch die von Lentz für die Negrischen Körperchen empfohlene Eosin-Methylenblaufärbemethode, ebenso die Färbung nach Mann. Besonders schöne Übersichtsbilder hinsichtlich der Menge und der Verteilung der Guarnierischen Körperchen im Schnittpräparat gab uns eine uns von Herrn Stabsarzt Hesse empfohlene Färbung mit Löfflers Methylenblau, nachfolgender Beizung in Lugolscher Lösung und kurzer Entfärbung in Alkohol (s. auch Lentz). Die Guarnierischen Körper und die Zellkernmitosen sind in so behandelten Schnitten intensiv dunkelblau gefärbt, während die ruhenden Zellkerne einen blaßblauen Ton annehmen. Ebenso können wir eine Färbung in einfacher konzentierrter wässriger Gentianaviolettlösung mit nachfolgender rascher Alkoholdifferenzierung und Nachfärbung mit verdünnter Fuchsinlösung empfehlen. Auch Methylgrün liefert vielfach recht gute Bilder.

Für die histologische Pockendiagnose ist schon das Gesamtbild der geimpften Hornhaut von Belang. Vor allem aber handelt es sich dabei um den Nachweis der Guarnierischen Körperchen. Bezüglich des histologischen Gesamtbildes der mit Variola-Vaccinevirus beimpften Hornhäute haben wir im wesentlichen ziemlich einheitliche, nur in quantitativer Beziehung verschiedene Ergebnisse erhalten. Vergleichen wir die uns geläufig gewordenen Bilder mit den von andern Autoren abgebildeten Präparaten, so finden wir zum Teil eine gute Übereinstimmung, teilweise aber auch Abweichungen die vielleicht mit der wechselnden Art der Beimpfung, vielleicht aber auch mit dem verschiedenen Charakter des zur Impfung benutzten Virus in Zusammenhang stehen mögen.

Wir sehen in unserem Material auf einem Schnitt durch die Cornea, der senkrecht zum Impfriß geführt wurde, in den ersten 6 Stunden nach der Impfung die Wunde als einfachen Spalt im Epithel. 12 Stunden nach der Impfung machen sich bereits Reaktionsvorgänge histologisch bemerkbar. Die Epithelzellen in der Nähe des Impfrisses zeigen eine deutliche Größenzunahme. Besonders reichlich mit Flüssigkeit durchtränkt sind die Basalzellen der Conjunctiva, welche z. T. vakuolisiert erscheinen und ihre zylindrische Gestalt in eine kugelförmige umgewandelt haben. Auch deuten dann schon einzelne Karyokinesen auf die beginnende Zellvermehrung

hin. Im Laufe der nächsten 24 Stunden nimmt die Vergrößerung und Vermehrung der Zellen weiter zu und führt oft zu einer Verwerfung der Epithelzellschichten unter Beteiligung einzelner Lamellen der Cornea. Als Folge dieser Vorgänge erscheint schließlich das Bild der Hornhaut gänzlich verändert. An Stelle der regelmäßig geschichteten flachen Epithellage breitet sich um die Impfläsion eine verdickte Schicht gleichmäßig gequollener, polygonaler oder rundlicher Zellen Der Impfriß ist dann meistens bereits von Epithelzellen ausgefüllt und nicht mehr deutlich zu erkennen, nur selten bleibt er noch am zweiten oder sogar am dritten Tage nach der Impfung nachweisbar. Der Verschluß der Impfläsion wird wohl zum Teil durch ein Zusammenfließen der einander drängenden Zellen von beiden Seiten des Risses her bewirkt. In erster Linie aber kommt nach unser Meinung doch eine akute Zellproliferation in der Umgebung des Risses für seine Ausfüllung in Betraeht. Die Zellvermehrung ist es auch, die das Material für die Bildung des spezifischen, abgegrenzten Pockenherdes liefert; sie dürfte auch als Ursache der stärkeren Trübung des Impfeffektes in der Fixierungsflüssigkeit im Gegensatz zum normalen Corneagewebe in erster Linie in Betracht kommen. Daneben mag daran auch der stärkere Gehalt der gequollenen Epithelzellen an gerinnungsfähigem Eiweiß beteiligt sein.

Die Entstehung des Pockenknötchens allein durch die hydropische Dehnung der an der Läsionsstelle vorhandenen Epithelzellen und durch eine Einwanderung von Zellen aus der Umgebung des Impfrisses in den Pockenherd zu erklären, wie Prowazek will, geht nach unseren Beobachtungen nicht an. Die Bedeutung der Zellproliferation für die Entstehung des mikroskopischen Pockenherdes, dessen makroskopische Sichtbarmachung das Wesen der Paulschen Diagnose ist, wird vor allem durch das regelmäßige und häufige Vorkommen von atypischen Zellbildungen bewiesen, auf die weiter unten näher eingegangen werden soll.

Paul bildet solche Pockenherde auf der Hornhaut als flache Zellhügel ab, die aus mehrschichtigem Epithel gebildet werden und nur an der freien Oberfläche über die Grenzlinie der unveränderten Conjunctiva hinausragen, nach der Cornea zu dagegen fast in einer Linie mit der Basalmebran abschließen.

In einer Abbildung, die Paschen (Kraus-Levaditi, 1. Ergänzungsbd. S. 477) von einem Schnitt durch eine 24 Stunden infizierte Hornhaut gibt, erkennt man wohl noch den Impfriß in Form einer Lücke im Epithel; von einer Epithelwucherung oder Quellung ist aber fast nichts zu sehen. Das reichlich Guarnierische Körperchen enthaltende Conjunctivialepithel bildet eine gleichmäßig dünne Schicht, deren Zellen auch in der Nähe des noch erkennbaren Impfrisses ganz unverändert und ungestört geblieben sind. Dieses scheint uns eine immerhin recht seltene Form des Pockenimpfeffektes auf der Cornea zu sein. Viel typischer erscheint uns eine von demselben Autor an anderer Stelle (S. 480) gegebene Abbildung des gleichen Prozesses, wo eine Hornhautimpfung mit Variolavirus einen Impfeffekt erzeugt hat, der als Epithelwucherung zapfenartig ins Bindegewebe der Cornea hineinragt.

Dieses Bild, auf das Paschen in seiner Arbeit nicht weiter bezug nimmt, scheint uns den Variolavaccineimpfeffekt, typischer und charakteristischer wiederzugeben als die gleichmäßig verdickte Epithelleiste Paschens oder der Epithelhügel von Paul.

Hückel und v. Wasielewski beschreiben ebenfalls Epithelzapfen, welche an der Rißstelle ins Bindegewebe hineinwuchern. In Übereinstimmung mit den Befunden dieser Autoren erhielten wir sowohl bei Variola- wie bei Vaccineimpfung der Kaninchencornea stets solche Epithelzapfen an der Impfstelle. Nach unseren Beobachtungen entwickelt sich das Pockenknötchen in der Weise, daß die Epithelzellen 12 Stunden nach der Impfung den Impfriß bereits ausgefüllt haben, daß weiterhin durch Quellung, Vermehrung und Verlagerung der Zellen zunächst eine flache hügelartige Erhebung der Cornea in der Umgebung des Impfrisses zustande kommt, wie Fig. 1 auf Tafel 1 zeigt. Dieses Anfangsstadium des Pockenherdes, welches den Bildern entspricht, die Paul von dem Impfeffekt gibt, geht sehr bald in das Bild eines in die Tiefe wuchernden Spornes über, in dem durch den Druck des sich vergrößernden Herdes die beim Impfen vielleicht verletzten Bindegewebslamellen der Cornea auseinandergedrängt werden und das quellende Epithelgewebe hier ins Bindegewebe einzudringen beginnt.

Entsprechend der Breite der bei der Impfung entstandenen Lücke im Cornealgewebe bildet sich nun entweder ein spitz endender Epithelkegel (Tafel 1, Fig. 4 u. 5) oder ein zylindrischer (Tafel 1, Fig. 2 u. 3), manchmal sogar fast kugliger Epithelzapfen aus. Mitunter kann ein solcher rundlicher Epithelzapfen mit dem oberflächlichen Conjunctivalepithel nur noch durch eine schmale Leiste in Verbindung bleiben und es entsteht so das Bild einer fast isolierten Epithelkugel.

Die Erklärung für die Verschiedenartigkeit der Bilder des Pockenimpfeffektes bei den einzelnen Autoren ist vielleicht in der wechselnden Art des Ritzens der Hornhaut zu suchen. Bei oberflächlicher Verletzung des Epithels mögen Bilder, wie sie Paschen gibt und wie auch Paul sie abbildet, zustandekommen. Je tiefer der Impfriß in die Cornea eindringt, um so größer und breiter kann der Epithelherd in die Bindegewebslamellen hineinwuchern. Es ist möglich, daß der Impfhügel umso flacher bleibt, je mehr dem unter Druck stehenden Epithel ein Ausweg nach unten geboten wird. Wir haben jedenfalls niemals so erhebliche Hügelbildungen an der Impfstelle gesehen, wie sie Paul mikroskopisch und auch makroskopisch abbildet. Für die makroskopische Sichtbarkeit des Impfeffektes dürfte es übrigens gleichgültig sein, ob sich an der Impfstelle ein Hügel oder ein Zapfen bildet, da sich jede Vermehrung an Zellen und koagulierbarem Eiweiß, an der Oberfläche oder in der Tiefe der Cornea, bei der Härtung durch eine Trübung bemerkbar macht.

Übrigens wird diese lokale Epithelwucherung nicht spezifisch durch die Anwesenheit von Variola-Vaccinevirus bedingt. Denn ähnliche Bilder sahen wir auch bei unseren Kontrollimpfungen, bei einfacher Ritzung des Auges sowohl wie bei einer Nachbehandlung mit chemischen Reizmitteln oder abgetöteter Lymphe entstehen. Auch solche Augen ließen uns an denRißstellen die Entwicklung von Epithelzapfen als Ausdruck des normalen Regenerationsbestrebens des Epithelgewebes erkennen, die nur quantitativ von dem durch das Zutun des Pockenvirus erzeugten Impfherde abweichen.

Nach diesem ersten Stadium des Pockenherdes, das durch Quellung und Proliferation des Epithels charakterisiert ist, beginnt im Verlauf von 24—48 Stunden Degeneration und Nekrose. Der ganze Herd stirbt ab und wird ausgestoßen, wie bei der Heilung

menschlicher Pockenpusteln. Die abgestorbenen und ausfallenden Zellen bedingen kraterartige Vertiefungen zunächst im Zentrum des Pockenherdes, die schon makroskopisch beim Paulschen Versuch wahrnehmbar sind. Erst nach der Abstoßung der toten Zellen setzt die endgültige Regeneration ein, welche von den Rändern des an den Herd stoßenden unveränderten Epithels her erfolgt. Hier beginnt nach Ausstoßung des nekrotischen Herdes eine lebhafte Zellvermehrung, wie man an den sehr zahlreichen Mitosen in diesen Gebieten erkennen kann, und die jungen Zellen schieben sich vor und wuchern in den durch die herausgefallenen Zellen entstandenen Krater hinein. Nach etwa 136 bis 174 Stunden ist die Höhlung nicht zu großer Pockenherde ausgefüllt und die Regeneration beendet.

An dem Einschmelzungsprozeß der gewucherten Epithelzellen nehmen entsprechend dem stark entzündlichen Charakter des Impfeffektes auch Leukocyten einen gewissen Anteil. Aber für die Entstehung des Paulschen Impfherdes, die Zellvermehrung am Orte der Infektion im Verlauf der ersten 48 Stunden nach der Impfung, ist diese Zellart ziemlich belanglos. Dagegen dürfte auf das reichliche Hinzuströmen von Wanderzellen die im weiteren Verlauf der Entwicklung des Pockenherdes eintretende spontane Trübung desselben mit in erster Linie zurückzuführen sein, die ihn auch am lebenden Auge erkennbar macht. Die Leukocyten sitzen zunächst vorwiegend zwischen den Lamellen der Cornea, dringen von hier aus zwischen die Epithelzellen ein und finden sich schließlich über den ganzen Impfherd ziemlich gleichmäßig verteilt. Wenn sich bereits ein zentraler Defekt gebildet hat, sitzen sie zwischen den Epithelzellen am Grunde desselben in besonderer Menge und füllen auch den Hohlraum des Kraters teilweise aus. Diese Leukocyten gehören in der Mehrzahl dem eosinophilen Typus an. Offenbar zerfallen sie in dem Impfeffekt in beträchtlicher Zahl. Mitunter werden sie im ganzen oder Trümmerstücke ihrer Kerne von Epithelzellen aufgenommen, und es können auf diese Weise Bilder entstehen, die mit Guarnierischen Körperchen eine gewisee Ähnlichkeit haben. Auch die freigewordenen Granula dieser eosinophilen Leukocyten können das mikroskopische Bild des Pockeneffekts beeinflussen, worauf weiter unten noch eingegangen werden wird.

Die Verbreiterung des Conjunctivalepithels an der Impfstelle, die in ihrem Mittelpunkt zu einer zapfenartigen Wucherung in die Tiefe und zur Bildung eines flachen Hügels nach außen zu führt, nimmt an der Peripherie des Herdes ganz allmählich ab. Ebenso gehen die Epithelzellen am Rande des Herdes auch in ihrem histologischen Charakter allmählich zum normalen Verhalten über. Unter den Epithelzellen des Pockenherdes finden sich regelmäßig mehrere charakteristische Typen. Als wichtigster und zahlreichster darunter tritt die ödematös gequollene Zelle in Erscheinung (Taf. I, Fig. 6, 7 und 13). Diese Zellen zeigen gegenüber dem normalen Epithel eine erhebliche Zunahme des Umfanges, die durch ihren reichlicheren Flüssigkeitsgehalt hervorgerufen wird. Infolge dieser starken serösen Durchtränkung zeigen die Kerne der Zellen, vor allem aber das Plasma, eine lichtere Färbung als die normalen Epithelzellen der Umgebung. Besonders die Basalzellen der Conjunctiva werden durch diese ödematöse Quellung in auffälliger Weise verändert; ihr dichtes reihiges Gefüge geht infolge der Vergrößerung und Abrundung der Zellen voll-

kommen verloren, die Zellen liegen ohne Ordnung durcheinander und unterscheiden sich dann in keiner Weise von den Zellen der mittleren Schicht des vorderen Conjunctivalepithels. Auch die Anordnung des Chromatins im Zellkern und Plasma dieser Zellen ändert sich, indem sich die Chromatinanhäufungen im Fundus der Zellen und in der basalen Partie des Kernes auflösen und unregelmäßig im Kern und der ganzen Zelle verteilen.

Der Grad der Flüssigkeitsdurchtränkung der Epithelzellen im Gebiete des Pockenherdes ist verschieden; einzelne quellen bis zum Doppelten und Dreifachen des normalen Umfanges an und fallen durch ihre beträchtliche Größe sogleich ins Auge. Auf Schnittpräparaten erscheinen diese besonders großen hydropischen Zellen gewöhnlich stark geschrumpft. Sie weisen in der Umgebung des normal großen, oft pyknotisch gefärbten Kernes gewöhnlich eine ringförmige Lücke auf, die offenbar durch die Retraktion des sehr dünnflüssigen Protoplasmas bei der Härtung entstanden ist (Tafel 1, Fig. 9, Taf. 3, Fig. 5 und 10). Auch im übrigen enthält das Plasma dieser Zellen reichlich Vakuolen, während es andererseits bald an der Peripherie (Tafel 1, Fig. 9 und 10), bald um den perinukleären Hohlraum herum ringförmige Anhäufungen von dichterer Konsistenz bildet (Tafel 1, Fig. 8, Taf. 3, Fig. 5). Ein anderer Teil dieser vergrößerten Zellen hat ein im ganzen verdichtetes Plasma, das einen tieferen Farbton annimmt als bei normalen Zellen. Das verdichtete Plasma dieser Zellen verhält sich bei der Färbung auch insofern eigenartig, als es befähigt ist, Kernfarbstoffe aufzunehmen und sich mit diesen fast ebenso stark zu färben wie der Kern normaler Zellen. Schließlich kommt es auf diesem Wege zur Bildung von Zellen, bei denen das dichte, offenbar sehr zähe, stark färbbare Plasma eine Andeutung konzentrischer Schichtung um den Kern oder den perinukleären Hohlraum erkennen läßt (Tafel 3, Fig. 2—7) oder sich von der Zellwand zurückzieht, die meist an den umgebenden Zellen haften bleibt und die runde Gestalt der Zelle noch erkennen läßt (Tafel 1, Fig. 8). Diese Bildungen beruhen nicht etwa auf Schrumpfungvorgängen, wir fanden sie bei allen oben angeführten Fixationsmethoden und wir möchten sie daher als vitale, den Conjunctivalzellen spezifische und im Pockenherd regelmäßig auftretende Veränderungen ansprechen, da wir sie auch in frischen Präparaten wiederfinden konnten. Da der Kern dieser Zellen von dem dichten, einheitlichen Plasma wie von einem Mantel umhüllt wird, pflegten wir diese charakteristische Umbildungen der hydropischen Zelle als Mantelzellen zu bezeichnen (Tafel 1, Fig. 8 und 9).

Im weiteren Verlauf der Degeneration, denn es handelt sich bei diesen Zellbildungen offenbar um verschiedene Stadien der Koagulationsnekrosen der Zellen, bildet sich eine immer stärkere Verdichtung des Plasmas heraus, so daß schließlich der Kern in der Plasmaumhüllung kaum oder gar nicht mehr erkennbar oder färberisch differenzierbar ist (Tafel 3, Fig. 7a). Gleichzeitig verkleinert sich das ganze Zellgebilde, es schrumpft zu einer dichten Kugel zusammen und ist in diesem Zustande wohl als abgestorben zu betrachten. Die Entwicklung von der hydropischen Zelle bis zu diesem toten Endstadium verläuft ziemlich schnell, so daß schon in 48 Stunden alten Herden einzelne Zellen das Endziel der Degeneration erreicht haben.

Diese, dem schließlichen Zelltod anheimfallenden Epithelien können nun in verschiedenen Stadien der Degeneration von noch lebenskräftigen, mitunter aber ebenfalls

bereits auf dem Wege degenerativer Veränderungen begriffenen Zellen in ihr Inneres aufgenommen, phagocytiert werden. Dadurch entstehen sehr eigenartige Bildungen, die schon von Hückel beschrieben und neuerdings von Paul sogar als spezifische Produkte des Variola-Vaccineprozesses angesprochen werden: die sogenannten Schachtelzellen (Tafel 3, Fig. 3—7, 12, 13, 14; Taf. 1, Fig. 10—18). Diese Schachtelzellen sind regelmäßig und in allen Stadien in mehr oder weniger großer Anzahl in den Impfherden vorhanden. Sie sind bereits 6 Stunden nach der Impfung nachweisbar. Ihr Bau ist recht verschieden und dabei doch sehr charakteristisch. Sie werden immer nur von Epithelien gebildet, nicht etwa von Makrophagen oder Leukocyten. In der einfachsten Form besteht die Schachtelzelle aus einer gequollenen Epithelzelle, deren Kern von einem im Zentrum der Zelle liegenden runden Gebilde an die Zellwand gedrückt erscheint (Tafel 3, Fig. 3, 4; Taf. 1, Fig. 16 und 17). Dieses Gebilde ist meist noch durch die etwas verschiedene Dichte der peripheren und der zentralen Partie als Zelle im Stadium der Mantelzelldegeneration zu erkennen. Mitunter aber ist das eingeschlossene Gebilde auch schon vollkommen homogen (Tafel 3, Fig. 6b, 7b). Die phagocytierende Zelle selbst ist meist ebenfalls schon im Stadium der ödematosen Quellung oder im Beginn der Mantelzellbildung, da ihr randständiges Plasma oft sehr dicht erscheint und den eigenen Kern sowie die eingeschlossene Zelle als feste Hülle umschließt (Tafel 3, Fig. 5). Meist ist der an die Wand gedrückte Kern der einschließenden Zelle noch normal (Tafel 3, Fig. 5), oft aber auch bereits degeneriert, pyknotisch (Tafel 3, Fig. 4), durch den Druck des intrazellulären Fremdkörpers in mehrere Teilstücke zersprengt (Tafel 3, Fig. 4, 6c, Tafel 1, Fig. 10).

Das Plasma der phagocytierenden Zelle ist fast immer konzentrisch geschichtet und färbt sich meist normal, mitunter aber auch schon etwas pyknotisch.

Nun können auch mehrere degenerierende Zellen von einer einzigen Epithelzelle aufgenommen werden und es entstehen so große, manchmal aus 4 Zellen gebildete Komplexe von sehr verschiedenartigem Aussehen, da sich die phagocytierten Zellen in wechselnden Stadien der Mantelzelldegeneration befinden, so daß durchaus homogene rundliche Schollen, das Endprodukt der Entwicklung, neben noch deutlich als Zelle erkennbaren Gebilden von derselben umschließenden Zelle umfaßt werden (Tafel 3, Fig. 6, Tafel 1, Fig. 11). Auch ganze Schachtelzellen können wiederum von einer anderen Epithelzelle eingeschlossen werden und die auf diese Weise entstehenden Gebilde verdienen den ihnen zuteil gewordenen Namen in besonderem Maße (Tafel 3, Fig. 12). Gelegentlich kommen auch Schachtelzellen vor, in denen die im Innern gelegene Mantelzelle fast den ganzen Raum ausfüllt, während mehrere Epithelzellkerne von normal färbbarem Plasma umgeben, eingebuchtet und flach gedrückt an die Zellwand gepreßt werden (Tafel 3, Fig. 14).

Die Entstehungsweise der Schachtelzellen war bisher noch nicht geklärt. Wir möchten sie, wie oben schon angedeutet wurde, im allgemeinen für phagocytären Ursprungs halten. Daneben aber kommt vielleicht doch noch ein anderer Entwicklungsmodus dieser sonderbaren Gebilde in Betracht, nämlich die Entstehung durch unvollkommene Zellteilungen. Wir haben schon ausgeführt, daß der im Pockenherd

sich abspielende pathologische Prozeß im wesentlichen eine Koagulationsnekrose der anfänglich wuchernden Zellen ist. Dieser Vorgang wird durch Veränderungen des Zellplasmas eingeleitet, welches nach anfänglicher ödematöser Durchtränkung in einen festeren, zäheren Zustand gerät, der sich vielfach durch eine konzentrische Schichtung zu erkennen gibt. Der Kern solcher Zellen bleibt lange reaktionsfähig und steht zunächst noch unter dem Proliferationsreiz, der im Pockenherde vorhanden ist. In diesem Reizzustande erfolgen wohl auch Teilungen, die vielfach amitotisch verlaufen. Nun ist es denkbar, daß die bei einer solchen Teilung entstandenen Kernstücke durch das zähe Plasma der Zelle festgehalten werden, daß sie aber, noch mit ausreichender plastischer Kraft begabt, im Innern der Mutterzelle zur Bildung einer neuen in sich abgeschlossenen Zelle schreiten. Indessen müßten, wenn die Entwicklung so vor sich ginge, die eingeschlossenen Zellen durchschnittlich einen jüngeren, lebensfrischeren Eindruck machen. Das aber ist keineswegs der Fall, im Gegenteil, wie oben beschrieben wurde, zeigen die im Innern solcher Zellkomplexe gelegenen Gebilde vielfach ein weit vorgeschrittenes Degenerationsstadium. Uns scheint daher die phagocytäre Auffassung der Schachtelzellen besser begründet.

Daß aber die zweite Erklärungsmöglichkeit der Schachtelzellen nicht ganz außer acht gelassen werden darf, beweist ein weiterer Zelltypus, der sich im Pockenherd regelmäßig, wenn auch weit seltener als die drei zuerst besprochenen Zellarten vorfindet, die epitheliale Riesenzelle. Die Riesenzellen sind für das Anfangsstadium der Pockeneffloreszenz besonders charakteristisch. Sie sind oft bereits 3 Stunden nach der Impfung nachweisbar, und werden im Laufe des zweiten bis dritten Tages bereits spärlicher.

Die Riesenzellen sind Gebilde von meist erheblicher Größe, in deren Plasma eine oft sehr beträchtliche Zahl von Kernen eingelagert ist. Das Plasma dieser Zellen färbt sich intensiver als das Plasma normaler Zellen, hat aber nicht die derbe, zähe Konsistenz wie bei den Mantel- und Schachtelzellen. Die Zellkerne liegen meist in der Mitte des ihrer Zahl ungefähr entsprechend großen Protoplasmaklumpens dicht beieinander. Ihre Menge beläuft sich im Durchschnitt auf 5 bis 15 (Tafel 3, Fig. 1, 18). Die Zellkerne der Riesenzellen sind sehr stark färbbar, z. T. pyknotisch; Teilungsfiguren haben wir bei ihnen nicht finden können. Über die Entstehung dieser Zellen gaben uns die Schnittpräparate keinen Aufschluß. Es ist aber wohl nur die eine Annahme möglich, daß sie durch eine unter dem Einfluß des Proliferationsreizes im Pockenherd sich vollziehende stürmische Kernteilung ohne nachfolgende Zellteilung entstehen. Die Ursache, weswegen bei der Bildung der Riesenzelle die Kerne in derselben Zelle beisammen bleiben, ist vielleicht, wie bei manchen vielkernigen Entwicklungsstadien von Protozoen, in der Schnelligkeit der Kernteilnngen zu suchen, mit denen die Zellteilung nicht gleichen Schritt halten kann. Bei den Schachtelzellen wäre dagegen die Dichte des Plasma die Ursache des Zusammenbleibens der Kernteile analog der Teilung von Protozoen in einer gemeinsamen Zystenhülle, falls überhaupt eine Bildung dieser Zellen durch Teilungsvorgänge stattfindet.

Da die zellulären Produkte verschiedener entzündlicher Reize bekanntlich keineswegs spezifisch sind, haben wir uns ausgiebig mit der Frage beschäftigt, ob und

inwieweit die beschriebenen Veränderungen der Epithelzellen im Pockenimpfeffekt auf die spezifische Wirkung des Pockenvirus zurückgeführt werden können. Bei diesen Untersuchungen hat uns die weiter unten beschriebene Frischfärbemethode besonders gute Resultate geliefert, da die Schnittmethode gerade bei Kontrollaugen etwas spärliche Resultate ergab. Wir haben aber auch in Augenschnitten von Kontrolltieren gelegentlich die oben geschilderten, entzündlichen Veränderungen des Corneaepithels wie hydropische Zellen, Mantel-, Schachtel- und Riesenzellen, wenn auch meist nur spärlich, aufgefunden, und können daher allen diesen Zellen keine Spezifität für den Pockenprozeß zuerkennen. Auch die von Gins (1918 Tafel 5) dargestellten Zellbilder sind unseres Erachtens nicht unbedingt auf eine Windpockeninfektion zurückzuführen, sondern können als Degenerationsvorgänge des Epithels gedeutet werden, die die Hornhautzellen vielleicht schon in ihrem normalen Entwicklungsgang, jedenfalls aber unter der Einwirkung verschiedener Reize durchmachen. Hinsichtlich des Reichtums an diesen Gebilden kann sich aber kein Entzündungsprozeß des Kaninchenauges mit der Pockenepitheliose messen.

Nur ein Gebilde fanden wir, wie alle Autoren, die sich mit dieser Frage beschäftigt haben, in den Schnittpräparaten als spezifisch für den Variola-Vaccineprozeß: die Guarnierischen Körperchen. Auf die zurzeit noch immer unentschiedene Frage, ob die Guarnierischen Körperchen als Zellreaktionsprodukte aufzufassen oder parasitärer Natur sind, soll hier zunächst nicht eingegangen werden. Jedenfalls deutet das regelmäßige Auftreten der Guarnierischen Körperchen beim Variola-Vaccineprozeß auf einen so engen Zusammenhang der fraglichen Gebilde mit dem spezifischen Erreger, daß ihrem Auftreten die größte diagnostische Bedeutung zukommt.

Eine eindeutige morphologische Definition der Guarnierischen Körperchen ist bisher wohl noch nicht gegeben worden. Auch uns ist das nicht möglich. Aus der Literatur ergibt sich, daß von verschiedenen Autoren verschiedene Gebilde als Guarnierische Körperchen aufgefaßt worden sind. Sogar homogenisierte Schachtelzellen sind der Bezeichnung als Guarnierische Körperchen nicht entgangen.

Wir haben in Schnitten durch die Kaninchencornea als Guarnierische Körperchen in den Epithelzellen eingeschlossene, rundliche bis rundlich-eckige Gebilde von wechselnder Größe aufgefaßt, die sich mit Kernfarbstoffen stark färben, in mehr oder weniger naher räumlicher Beziehung zum Zellkern stehen, von einem Hof umgeben sind und mitunter eine oder mehrere zentral gelegene körnige Einlagerungen erkennen lassen.

Daß bei diesen nicht sehr charakteristischen morphologischen Verhältnissen die Möglichkeit zu Irrtümern erheblich ist, kann nicht geleugnet werden. Es ist keineswegs leicht, über die Natur eines isoliert liegenden Körnchens Klarheit zu erlangen. Man läuft nicht selten Gefahr, phagocytierte Leukocytenkernreste oder Bakterien, sowie manchmal auch abgelöste Teile des Epithelzellkerns selbst als Guarnierische Körperchen zu deuten. In der Arbeit von Hallenberger wird z. B. Tafel 1, Fig. 13 ein Gebilde als Guarnierisches Körperchen bezeichnet, das wir als eine stark degenerierte, in einer Schachtelzelle liegende Mantelzelle auffassen möchten.

Bei der Unsicherheit aller qualitativen morphologischen Merkmale bleibt als wichtigstes diagnostisches Moment für die Erkennung der Guarnierischen Körperchen die Quantität ihres Vorkommens in einem fraglichen Herde. Die Guarnierischen Körperchen treten selten einzeln auf, und wenn das einmal der Fall ist, sind sie kaum mit Sicherheit als solche zu erkennen. Mit Recht wird man nur solche Körperchen als Guarnierische Körperchen bezeichnen, welche in irgend einer Form gehäuft in zahlreichen Zellen auftreten.

Wenn nun die zur Diagnose erforderliche Menge Guarnierischer Körperchen in allen Pockenherden mit Sicherheit auftreten würde, dann würde die Erkennung und Deutung dieser Herde keine Schwierigkeiten machen. Das ist aber nach unseren Erfahrungen keineswegs der Fall. Wir haben nicht selten große und vollkommen ausgebildete Pockenherde auf der Cornea bezüglich der Guarnierischen Körperchen mit durchaus negativem Ergebnis durchmustert, so daß das Gesamtergebnis unserer positiven histologischen Befunde einen bescheidenen Prozentsatz der makroskopisch positiven Impfergebnisse ausmachen würde. Andere Autoren haben ähnliche Erfahrungen gemacht.

Besonders störend in diagnostischer Beziehung ist der Umstand, daß wir die Körperchen in den Schnittpräparaten gerade bei Variola-Augen öfters vermißten, daß also das Variola-Impfknötchen im allgemeinen ärmer an Guarnierischen Körperchen ist als der Vaccineherd, in welchem sie in der Regel reichlich aufzutreten pflegen. Dabei ist es mehr oder weniger Sache des Zufalls, im Schnittpräparat durch die mit Variolamaterial beimpfte Hornhaut einen Pockenherd zu erhalten, wenn man nicht etwa die ganze Cornea oder das herausgeschnittene verdächtige Stückchen in Serienschnitte zerlegen will, eine Methode, die sich wegen ihrer langen Dauer und Umständlichkeit als Verfahren der Varioladiagnose, bei dem doch tunlichste Beschleunigung die Hauptsache ist, nicht besonders eignet.

Aber selbst wenn ein Pockenherd im Schnitt gefunden wurde, ist der Nachweis einer zur positiven Diagnose genügenden Anzahl Guarnierischer Körperchen noch nicht gesichert. Die Zahl dieser Gebilde schwankt in den Pockenherden auch ein und desselben Auges zwischen weiten Grenzen und die Abwesenheit der Guarnierischen Körperchen ist noch nicht beweisend dafür, daß ein fraglicher Herd nicht variolöser Natur ist oder daß ein zur Impfung benutztes Material kein Variolavirus enthielt. Wollte man also für die Varioladiagnose allein den Nachweis der Guarnierischen Körperchen im Schnitt maßgebend sein lassen, so würden reichliche Fehldiagnosen die unausbleibliche Folge sein. Für die Diagnose ist der Nachweis der Guarnierischen Körperchen im Schnitt durchaus unzulänglich, wogegen die Schnittmethode für das genauere Studium der histologischen und morphologischen Eigenschaften des Pockenherdes und der Guarnierischen Körperchen natürlich unentbehrlich ist.

Über die Verteilung der Guarnierischen Körperchen im Pockenherde sind von den Autoren ziemlich verschiedene Angaben gemacht worden. So bildet Paschen an der schon zitierten Stelle ein Präparat ab, in dem man die Körperchen in der Umgebung des Impfrisses über das ganze Hornhautepithel diffus verteilt in den Zellen liegen findet. An unserem Material konnten wir niemals eine derartige Aussat der Zelleinschlüsse

beobachten. Wir fanden die Guarnierischen Körperchen sowohl in der Variola- wie in der Vaccineeffloreszenz nur in den Epithelzellen der Proliferationsherde und zwar sowohl in scheinbar normalen wie auch in den hydropischen, den Mantel- und Schachtelzellen, nicht dagegen in Riesenzellen.

An den Grenzen des Epithelzapfens des Pockenknötchens gegen das gesunde Gewebe hin verschwinden die Zelleinschlüsse in unseren Präparaten und in dem gesunden Conjunctivalepithel; außerhalb der Pockenherde haben wir verdächtige Körperchen nur so selten und vereinzelt zu finden vermocht, daß wir sie nicht mit Sicherheit als Guarnierische Körperchen ansprechen konnten. Dagegen waren die Körperchen in Präparaten, die uns von anderer Seite zur Verfügung gestellt wurden, ebenfalls, wie vorher beschrieben, über die Cornea verstreut, nicht nur auf die spezifischen Herde beschränkt. Wir glauben, daß dieser Unterschied zwischen den Präparaten verschiedener Herkunft in erster Linie auf Differenzen des zur Impfung benutzten Virus zurückzuführen sein wird, indem z. B. ein besonders hoch virulentes Virus vielleicht die Fähigkeit besitzt, die Epithelzellen, auch ohne daß sie ein mechanischer oder sonstiger Reiz getroffen hat, zu infizieren und daß es so auch an Stellen, die dem Impfriß entfernt liegen, zur Bildung der spezifischen Produkte kommen kann. Vielleicht ist auch die Art der Impfung für das verschiedene Ergebnis verantwortlich zu machen, wie ja schon bei der Beschreibung des histologischen Gesamtbildes der Impfherde betont worden ist.

In der Mitte des Impfherdes fanden wir, wie schon Guarnieri, Pfeiffer und v. Wasielewski mitgeteilt haben, größere, z. T. schwächer gefärbte Einschlußkörperchen, während an der Peripherie der Herde in der Regel kleinere, stärkere färbbare Guarnierische Körperchen zu sehen waren. Guarnieri faßte die kleinen, an der Peripherie der Herde gelegenen Einschlußkörperchen als die jüngsten, die unmittelbar am Impfriß liegenden größeren und blasseren Gebilde als die älteren Körperchen auf und wir möchten uns dieser Auffassung anschließen.

Zwischen den durch Variolavirus erzeugten Körperchen und den Zelleinschlüssen einer Vaccineinfektion der Hornhaut haben wir im Schnittpräparat außer quantitativen Differenzen keine sicheren Unterschiede finden können. Vaccinelymphe, unverdünnt verimpft, ergab stets ein sehr reichliches und frühzeitiges Auftreten von Guarnierischen Körperchen; dieselben waren schon 6 Stunden nach der Impfung nachweisbar, nach 24 bereits sehr reichlich, am reichlichsten 48 Stunden nach der Impfung vorhanden, und zwar fanden wir auf diesem Gipfelpunkt der Infektion alle möglichen Formen und Übergänge der Körperchen von beinahe zellkerngroßen, blaß gefärbten bis zu kleinen und kleinsten sehr stark tingierten Gebilden.

Frische Vaccinelymphe erwies sich auch in starken Verdünnungen als virulent. Wir haben noch mit Lympheverdünnungen von 1 : 10000 positive Impfergebnisse mit Befund reichlicher Guarnierischer Körperchen erhoben. Indessen tritt nach Impfungen mit so stark verdünnter Lymphe das Maximum der Entwicklung von Guarnierischen Körperchen im Corneaepithel deutlich verspätet ein und findet sich erst 72 Stunden nach der Impfung oder noch später auf dem Höhepunkt. Morphologisch unterscheiden sich die 48 Stunden nach Verimpfung verdünnter Lymphe in der Hornhaut auftretenden Zelleinschlüsse von den nach Impfung mit unverdünntem

Vaccinematerial auftretenden Körperchen durch ihre auffallende, ziemlich gleichmäßige Kleinheit und ihre intensive Färbbarkeit. Erst nach 72 Stunden sind in diesem Falle die oben beschriebenen verschiedenen Stadien von großen, schwach färbbaren, im Innern oft mit körnigen Einlagerungen versehenen Körperchen bis zu kleinsten stark und gleichmäßig gefärbten Körnchen zu finden.

Wie schon Guarnieri, Pfeiffer und v. Wasielewski bemerkt haben, ist zur Ausbildung der verschiedenen Altersstadien der Guarnierischen Körperchen eine gewisse Zeit nötig. Wir möchten annehmen, daß diese Zeitdauer für die einzelnen Keime eine verschieden lange ist. Bei reichlichem Virusgehalt des Impfmaterials wird eine starke Infektion der Epithelzellen stattfinden und unter den zahlreichen in den Zellen sich festsetzenden Erregern werden viele zu einem sofortigen Einsetzen der Entwicklung der Einschlußkörperchen Anlaß geben. Man wird in diesem Falle schon bald Zelleinschlüsse im Endstadium ihrer Entwicklung beobachten können. Ist der Virusgehalt dagegen wie bei stark verdünnter Lymphe nur gering, so wird bei der spärlichen Infektion der Zellen eine frühzeitige Entwicklung der Einschlüsse nur ausnahmsweise erfolgen und man wird daher die Jugendstadien der Einschlußkörperchen, die nach intensiver Beimpfung schon nach 6 Stunden in den Conjunctivalzellen auftreten, erst am 2. Tage, die reifen Formen aber erst im Verlaufe des 3. bis 5. Tages finden können.

Ganz ähnliche Bilder wie nach Verimpfung verdünnter Lymphe erhielten wir bezüglich der Guarnierischen Körperchen auf Schnitten durch Impfeffekte der Cornea, welche durch Verimpfung von Pockenpusteleiter erzeugt worden waren. Auch hier konnten wir im Schnitt durch den 24 Stunden alten Impfherd nur einzelne Gruppen gleichmäßig kleiner stark färbbarer, offenbar noch junger Guarnierischer Einschlußgebilde finden. Nach 48 Stunden waren die Körperchen reichlicher, nach 72 Stunden fanden wir sie noch zahlreicher und in größerer Mannigfaltigkeit des Ausbildungsgrades. In allen morphologischen Einzelheiten dieser verschiedenen Stadien waren sie aber den entsprechenden Gebilden des Vaccineimpfeffektes durchaus gleich. Wir konnten also feststellen, daß die Unterschiede unserer Guarnieri-Befunde bei der Verimpfung von Variola- oder Vaccinematerial nur quantitativer, nicht qualitativer Art sind und es wäre uns nie möglich gewesen, nach dem Habitus der Einschlußkörperchen die Diagnose zu stellen, ob zur Impfung verdünnte Lymphe oder Variolamaterial verwandt worden war. Wir können also auch für das am meisten spezifische histologische Element des Augenimpfeffektes dieselbe von der Erzeugung durch Variola- oder Vaccinevirus unabhängige morphologische Übereinstimmung feststellen, die Gins für die makroskopische Erscheinung des Impfherdes betont hat, im Gegensatz zu Paul, der auf Unterschiede im Aussehen des Impfeffekts hinweist, die von der Virusart abhängig sein sollen, allerdings beim Vergleich der Impfeffekte von Variolamaterial und unverdünnter Vaccine. Die Ursache für das quantitativ schwächere Ergebnis der Impfung mit Variolamaterial dürfte nach unserem Dafürhalten nicht sowohl darauf beruhen, daß die Erreger im Pockenpustelmaterial spärlicher vorhanden sind als in der Vaccinelymphe, sondern eher auf dem Umstande, daß die Virulenz des Variolaerregers für das Kaninchen geringer ist als die des Vaccinevirus, so daß von einer gleich großen Zahl beider Erreger die Bildung von Impfherden und

Guarnierischen Körperchen den Vaccinekeimen in viel größerem Umfange gelingt als den Variolaerregern. Deswegen geben auch mit Vaccine beimpfte Augen im Schnitt meistens positive Befunde Guarnierischer Körperchen, während diese in Variolaherden so selten sind, daß ihr Nachweis mit der Schnittmethode in praktisch-diagnostischer Hinsicht befriedigende Ergebnisse nicht geliefert hat. Dieses häufige Mißlingen des Nachweises der Guarnierischen Körperchen im infizierten Corneaepithel ist der größte praktische Nachteil der Schnittmethode. Auch wenn man die herausgeschnittenen Herde allein verarbeitet und auf diese Weise mit ziemlicher Sicherheit in jedem Schnitte einen Herd erhält, wird das Ergebnis bei der Spärlichkeit der Zelleinschlüsse im Variolaimpfeffekt und der geringen Zahl von Zellen, die man jedesmal übersehen kann, nicht sehr verbessert. Eine Übersicht über eine große Menge von Zellen kann man sich mittels der Schnittmethode nur durch die Durchsicht einer großen Anzahl von Präparaten, am besten von Serienschnitten verschaffen, und diese Methode arbeitet für ein diagnostisches, Eile erforderndes Verfahren doch verhältnismäßig langsam und umständlich.

Der größte Vorzug, den die Untersuchung der Pockenherde im Schnittpräparat bietet, ist die Klarheit und Übersichtlichkeit, mit welcher die histologischen Veränderungen zutage treten. Nur die Schnittmethode kann beim Vorliegen fraglicher Herde und der Abwesenheit von Guarnierischen Körperchen entscheiden, ob es sich um den doch immerhin ziemlich charakteristisch gebauten Pocken- oder Vaccineimpfeffekt oder einen Herd anderer Ätiologie handelt. Ferner ist die Schärfe, mit der die Schnittpräparate die Anordnung der Guarnierischen Körperchen im Epithelgewebe sowie ihr Verhältnis zur einzelnen Zelle und dem Zellkern erkennen lassen, für das Studium dieser Gebilde von großem Wert, obwohl sie für die Beurteilung rein morphologischer Verhältnisse, sowohl der Zellen wie ihrer Einschlüsse, nicht als maßgebend angesehen werden sollte, da sie doch etwas modifizierte Bilder gibt. Sie zeigt die Zellen des Impfherdes niemals in ihrer wahren Gestalt und zwar um so weniger, je lockerer gebaut, je reicher an Flüssigkeit dieselben waren. Bei einer so eingreifenden Präparationsmethode sind gewisse Schrumpfungen und Verzerrungen gerade dieser empfindlichen zelligen Elemente nicht zu vermeiden und so sieht man in den Schnitten stets gewissermaßen stilisierte Zellbilder, welche den natürlichen Verhältnissen keineswegs entsprechen.

Wir waren deshalb bemüht, ein Verfahren zu finden, bei welchem diese Nachteile der Schnittmethode vermieden werden konnten. Da wir gesehen hatten, wie locker gerade die gewucherten Zellen der Impfeffekte der Cornea ansitzen, wie leicht es ist, die Herde durch Abkratzen elektiv von der Hornhaut zu entfernen, versuchten wir, sie in Ausstrichpräparaten zu untersuchen. Dabei mußten wir auf die charakteristische Anordnung der Herde wohl von vorneherein verzichten, konnten aber einerseits eine bessere Übersicht über das gesamte und besonders das neugebildete Epithel und weiterhin Bilder erwarten, welche die natürlichen Verhältnisse getreuer wiedergaben. Fixierte Ausstrichpräparate führten uns nicht zu dem gewünschten Ergebnis. Es gelang uns nur ausnahmsweise gleichmäßig dünne Ausstriche von einer Zellage zu erhalten, in dickeren trat regelmäßig eine so starke Überfärbung der Zellkomplexe

ein, daß die einzelnen Zellen vollkommen verdeckt wurden und Einzelheiten verloren gingen.

Dagegen lieferten uns Versuche mit der Vital- bezw. Frischfärbung gute Resultate. Angaben über solche Färbungen finden sich bereits in der Literatur, indes sind sie für das Studium des Variola-Vaccinevirus bisher in systematischer Weise noch nicht ausgenutzt worden.

Schon Guarnieri beschreibt, wie wir bei nachträglicher Durchsicht der Literatur feststellen konnten, im Jahre 1892, daß er mit einer Mischung von Methylenblau und Blutserum in dem aus frischen Variola-Pusteln entnommenen Material die feinere Struktur des Cytorrhyctes zur Darstellung bringen konnte. Er schildert den Cytorrhyctes als einen Organismus von plasmatischer Substanz und veränderlicher Form und Größe, der sehr schwer färbbar sei. In demselben liegt ein mit Methylenblau sich gut färbender Körper von kugelförmiger Gestalt, welcher von einem hellen Hof umgeben wird. Um diesen Hof herum sollen in konzentrischer Anordnung stark lichtbrechende, sehr schwer färbbare Körnchen liegen. Wir möchten annehmen, daß dieser mit Methylenblau gut färbbare kugelige Bestandteil des Cytorrhyctes identisch mit dem sonst schlechthin als Guarnierisches Körperchen bezeichneten Gebilde ist und daß somit Guarnieri selbst wohl der erste war, der die Frischfärbung der Einschlußkörperchen ausgeführt hat.

Später aber ist die Färbung frischen Materials bei der Variola-Vaccine nur selten und gelegentlich angewendet worden. So gibt Hückel an, abgeschabte Conjunctivalepithelien in Kammerwasser, dem er eine Spur Methylenblau zugesetzt hatte, untersucht zu haben, geht aber auf die Resultate dieser Untersuchungstechnik weiterhin nicht ein.

Auch v. Prowazek (1904) färbte mit Variola-Vaccinevirus infizierte Epithelzellen vital mit Neutralrot oder Brillantkresylblau und fand dabei „bisweilen die Rindenschicht der Guarnierischen Körperchen rötlich" gefärbt. Weiterhin gibt er an, daß die Vaccinekörper sich im Gegensatz zu den Guarnierischen Körperchen vital mit Brillantkresylblau bläulich tingieren, betont aber immer wieder, daß sich mit Vitalfärbungen nennenswerte Resultate für den Nachweis und das Studium der Guarnierischen Körperchen nicht erzielen lassen. Diese Meinung, daß die Einschlußkörperchen nicht oder kaum mit Vitalfärbungen dargestellt werden können, ist von vielen anderen Forschern übernommen worden. Man findet in der Literatur immer wieder diesbezügliche Angaben, in denen sich die Autoren der Anschauung v. Prowazeks anschließen. Erst in neuester Zeit haben einige Forscher wieder versucht, die Guarnierischen Körperchen mittels der Vitalfärbung darzustellen. So gibt Schilling in einer Studie über die Kurloffkörperchen an, von den Guarnierischen Körperchen mit Azur II gute und typische Vitalfärbungen erhalten zu haben. Vor allem aber hat vor einiger Zeit (1915) Gins denselben Weg betreten. Er gibt an einer Stelle, die uns erst nach Abschluß dieser Arbeit zu Gesicht kam, die Darstellung einer Methode, die im Prinzip mit der von uns angewendeten übereinstimmt. Gins färbt seine Frischpräparate mit einer Lösung von Azur II in Ringerscher Flüssigkeit und macht für diese Technik alle Vorzüge geltend, die wir bei der von uns weiter unten beschriebenen Methode feststellen konnten, hat dann aber sein Verfahren für die

praktische Pockendiagnose nicht weiter verwertet. Wir haben von seiner Vorarbeit leider keinen Nutzen gehabt, sonst hätten wir von seiner Technik sogleich mit Beginn dieser Untersuchungen Gebrauch gemacht. Zunächst haben wir für unsere Versuche mit der Frischfärbung vorwiegend mit Vaccine infizierte Augen benutzt, da uns Variolamaterial erst später reichlicher zur Verfügung stand. Die Resultate der Frischfärbung, von den oben bereits gekennzeichneten quantitativen Differenzen abgesehen, sind aber bei beiden Virusarten durchaus gleichartig. Wir haben unsere Methode auch durch Untersuchungen an nicht spezifisch entzündeten Augen kontrolliert, indem wir die Augen der Versuchskaninchen entweder nur einfach ritzten oder auf die oberflächlich verletzten Augen Terpentinöl, tote Lymphe oder Blut und Peritonealleukocyten von Kaninchen aufbrachten, um zu prüfen, welchen Einfluß diese Stoffe auf das Zellbild ausüben würden.

Unsere Technik der Herstellung frisch gefärbter Präparate der Conjunctivalepithelien ist kurz die folgende: Vor der Entnahme des Materials wird das kokainisierte Kaninchenauge, nachdem es aus der Orbita herausluxiert ist, mit Kochsalzlösung gut abgespritzt, um Eiterzellen, die den Epithelzellen anzuhaften pflegen, zu entfernen. Dann werden unter Lupenkontrolle mit einem kleinen stumpfen Skalpell mit scharfer aber stumpfwinklig geschliffener Schneide unter mäßigem Druck kleine und größere Epithelfetzen abgeschabt, auf einem dem Auge fest angelegten Spatel gesammelt und, wenn eine genügende Menge beisammen ist, zur weiteren Präparation in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung auf Objektträgern verteilt. Die Kochsalzlösung, in der die Epithelgewebsstückchen eingebracht werden, wird mit einer Kapillarpipette oder Fließpapier abgesogen und ein- oder mehrmals erneuert, um den Schleim zu entfernen, der das Bild der Zellen bei der Färbung trüben würde. Die Kochsalzlösung wird schließlich mit Filtrierpapier möglichst vollständig entfernt, jedoch ohne daß das Präparat dabei trocken werden darf. Nun wird ein Tröpfchen Farbe auf die Gewebsstückchen gebracht und diese darin möglichst fein zerzupft. Als Farblösungen erwiesen sich uns nach vielen diesbezüglichen Versuchen als am besten geeignet frisch hergestellte Gemische von 1 ccm 1 %iger wässeriger Methylenblaulösung mit 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung, oder eine Mischung von 1,5 ccm einer $^1/_4$ %igen Brillantecht-Kresylblaulösung und 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Von besonderer Wichtigkeit ist die möglichst feine und gleichmäßige Verteilung der Epithelzellen in der Farblösung. Unterbleibt sie, so ist das Bild, obwohl eine Überfärbung nur schwer eintritt, infolge einander überschneidender und verdeckender Zell- und Kernumrisse unklar. Wir haben die Zerteilung der Gewebsfetzen am sichersten unter der Präparierlupe mit feinen Präpariernadeln erzielt. Je kleinere Fetzchen bei der Präparation entstehen, um so bessere Bilder ergeben die Präparate, weil sich kleine Zellgruppen schneller und gleichmäßiger mit der Farblösung durchtränken und die morphologischen Einzelheiten des Kerns, des Plasmas und der Einschlüsse besser erkennen lassen. Es ist zweckmäßig, das Zerzupfen des Materials in ziemlich wenig Farblösung auszuführen, so daß die Epithelstückchen nur eben gut damit befeuchtet sind. Da aber eine Eintrocknung der Zellen durchaus vermieden werden muß, läßt man von Zeit zu Zeit mittels einer feinen Capillarpipette etwas

Farbe nachfließen. Gibt man zu viel Flüssigkeit auf die Zellen, so schwimmen die Epithelstücke und können von der Präpariernadel nur schwer gefaßt werden. Sind die Epithelfetzen genügend verteilt und glatt ausgebreitet, so wird das Präparat mit einer größeren Menge der Farbflüssigkeit beschickt und in einer feuchten Kammer bis zur genügenden Durchfärbung aufgehoben, was etwa 30 Minuten nach dem ersten Auftropfen der Farbe erfolgt zu sein pflegt.

Dann wird auf das von der Farblösung noch bedeckte Präparat ein Deckglas vorsichtig mit der Pinzette aufgelegt, damit die Epithelstückchen möglichst ausgebreitet liegen bleiben, und das ganze Präparat schließlich mit Vaseline umrandet. Die Herstellungsdauer eines Präparates beläuft sich im Höchstfalle auf etwa eine Stunde. Es liefert also seine diagnostischen Anhaltspunkte in nicht viel längerer Zeit als der Paulsche Versuch.

Ob es sich bei der so erzielten Färbung um eine echte Vitalfärbung handelt, soll hier nicht erörtert werden. Es ist ja sehr schwer zu entscheiden, ob die aus ihrem Verbande herausgerissenen Epithelzellen, die im Laufe ihrer Entwicklung schon physiologisch degenerativen Veränderungen anheimfallen, bei der Berührung mit der Farblösung noch als lebend anzusehen sind. Die Kerne vieler Zellen färben sich nach der oben beschriebenen Methode in der Tat nur sehr schwach, ein Umstand, der dafür spricht, daß ihre biologische Aktivität noch nicht erloschen ist. Andere Zellkerne färben sich intensiver. Bezüglich der zelligen Elemente hat die Frage, ob es sich um eine Lebendfärbung des Materials handelt, keine besondere Bedeutung. Wichtiger ist sie dagegen für die Beurteilung der sich ebenfalls und zwar meist stark färbenden Guarnierischen Körperchen. Auf diese Verhältnisse wird weiter unten noch eingegangen werden.

Da es sich bei unserem Verfahren jedenfalls um keine reine Vitalfärbung handelt, möchten wir es als Frischfärbung bezeichnen. Wir können seine Anwendung für das Studium der feineren histologischen Veränderungen des Hornhautepithels gerade nach Beimpfung mit Variola-Vaccinematerial auch zu diagnostischen Zwecken sehr empfehlen. Denn es ermöglicht in einfacher und schnell arbeitender Technik die Erkennung spezifischer Veränderungen und zeigt für mehr theoretische Fragestellungen morphologische Einzelheiten in so ursprünglicher Form, wie sie das Schnittpräparat, das wieder eine Reihe anderer Vorzüge besitzt, nicht zu liefern vermag.

Im folgenden möchten wir auf die Veränderungen, die an den Zellen der mit Variola-Vaccinevirus beimpften Hornhaut nach der Frischfärbung mit Methylenblau oder Kresylblau zu erkennen sind, kurz eingehen.

Das Bild, das die Epithelzellen einer gesunden Hornhaut bei dieser Färbung zeigen, ist sehr einförmig: man sieht in den Gewebsfetzen meist schwach färbbare polygonale, kubische oder mehr zylindrische, dicht zusammenschließende Zellen mit großen bläschenförmigen, blaß gefärbten Kernen.

Demgegenüber zeigt das mit Variola-Vaccinevirus infizierte Hornhautepithel schon in frühen Stadien der Infektion, z. B. schon nach 6 Stunden ein mannigfaltiges, buntes Bild. Die einzelnen Zelltypen, die wir oben bei den Ergebnissen der Schnittmethode

beschrieben haben, sind in den frisch gefärbten Präparaten reichlich und in sehr charakteristischer Form wiederzufinden.

Besonders schön gelangen die hydropischen Zellen in ihren natürlichen Verhältnissen zur Darstellung. Sie sind dasjenige Element, welches dem Untersucher bei der Durchmusterung solcher Präparate zuerst auffällt, denn sie zeichnen sich, besonders in den frühen Stadien der Infektion, von den normalen Zellgruppen durch ihre erheblich lichtere Färbung aus, vor allem aber durch ihre außerordentliche Vergrößerung, die ihnen den 4—5fachen Umfang der normalen Zellen verleiht.

In späteren Stadien, etwa 24 bis 48 Stunden nach der Impfung sind diese ödematösen Zellen das vorherrschende Element der Frischpräparate, da sie beim Abkratzen besonders leicht und in großer Zahl vom Skalpell erfaßt werden. Solche Präparate bieten daher einen sehr typischen Befund von fast ausschließlich vorhandenen großen, blassen, fast ganz runden Zellen, ein Bild, das für die Variola-Vaccineinfektion der Hornhaut recht charakteristisch, jedoch nicht spezifisch ist. Die Erscheinung des Zellhydrops ist den entzündlichen Veränderungen des Hornhautepithels im allgemeinen eigen, wenn wir sie auch in dem beschriebenen Grade bisher nur bei der Variola-Vaccineinfektion beobachten konnten.

Sehr schön läßt sich nun die weitere Entwicklung der hydropischen Zelle in den frisch gefärbten Präparaten erkennen. Zunächst treten in dem fast ungefärbten Plasma der geblähten Zelle zahlreiche schwach färbbare Granula auf, unserer Auffassung nach ein Zeichen des Beginns der Entmischung des Plasmas, der Koagulation des Eiweißes, als Ausdruck des beginnenden Zelltodes.

Bei ihrem Fortschreiten macht sich die Koagulation durch die starke Färbbarkeit des Zellplasmas oder der ganzen Zelle bemerkbar. Die Bilder, unter denen sich diese Gerinnung des Zellplasmas weiterhin vollzieht, sind sehr mannigfaltig. Tafel 3, Fig. 18, Tafel 1, Fig. 7 zeigt eine stark hydropische Zelle, deren Plasma gerade aus dem überreichlich vorhandenen Lösungsmittel auszufallen beginnt. Das koagulierende Eiweiß bildet um den Zellkern einen dichteren Ring, während der übrige, wohl noch lebende Teil des Plasmas den ganzen Zellraum gleichmäßig ausfüllt. Tafel 3, Fig. 15 zeigt denselben Prozeß weiter fortgeschritten. Hier ist die Entmischung bereits soweit gediehen, daß sich das koagulierte Plasma in Form konzentrischer Ringe um den Kern abgeschieden hat. Wie oben bereits ausgeführt wurde, kann sich das Plasma aber auch nach der Zellwand hin ausscheiden, so daß ein Flüssigkeitsraum um den Kern entsteht.

In diesem Stadium der Gerinnung färbt sich das Plasma der Zellen in frischem Zustande sehr stark, fast so stark wie der Kern, und es entstehen dadurch die bei der Frischfärbung ganz besonders auffallenden Bildungen, die wir als „Mantelzellen" bezeichnen möchten. Ein weiteres Entwicklungsstadium der Mantelzelle zeigt Tafel 3, Fig. 16. Hier läßt die Färbung zwischen dem verdichteten Plasma und dem Zellkern keine scharfe Differenz mehr erkennen, beide bilden eine einheitliche, intensiv gefärbte schollige Masse. Wie auf dem Wege der Phagocytose oder Einstülpung dieser degenerierenden Gebilde durch hydropische Zellen die verschiedenen Bilder der sogenannten Schachtelzellen entstehen, ist bei der Beschreibung der Schnittpräparate schon ausgeführt

worden. Die Aufklärung über die Entstehungsweise dieser Gebilde verdanken wir aber der Frischfärbung, die uns ausgezeichnet scharfe Bilder dieser eigenartigen Zellen lieferte.

Die auf Tafel 3, Fig. 13c dargestellte Zelle zeigt den Beginn dieser Schachtelzellbildung. Man sieht hier eine hydropische Zelle in einer anderen eingeschlossen liegen. Im weiteren Verlaufe der Entwicklung degeneriert die phagocytierte Zelle, ihr Plasma koaguliert und vereinigt sich schließlich mit dem Kern zu einer homogenen stark färbbaren Scholle. Solche Bilder können zu Verwechslungen mit Zellen, die große Guarnierische Körperchen enthalten, Anlaß geben (Tafel 3, Fig. 12), besonders, wenn die eingeschlossenen Zellen durch weiteren Flüssigkeitsverlust noch kleiner, dichter und homogener werden (Taf. 3, Fig. 13a und b).

Nach unserer Auffassung handelt es sich hier um Schachtelzellen, die aus einer hydropischen Zelle mit wandständigem Kern und normalem Plasma bestehen, in welchen zentral die stark degenerierte schollige Mantelzelle liegt. Wir möchten glauben, daß die zu homogenen scholligen Körpern degenerierten, in anderen Epithelzellen eingeschlossen Mantelzellen öfters für besondere Entwicklungsstadien der Guarnierischen Einschlußgebilde gehalten worden sind. Auch wir haben sie anfänglich in diesem Sinne gedeutet und sie als Quellungs- und Degenerationsprodukte Guarnierischer Körperchen aufgefaßt, bis uns die Frischfärbung Aufklärung über ihre Entstehung gab. Die phagocytierte Mantelzelle wird wohl mitunter von der sie umfassenden Schachtelzelle verdaut (Tafel 3, Fig. 8 und 11). Ob gelegentlich im Innern solcher Zellen noch Proliferationsvorgänge der Zellkerne vorkommen, die zu einer intrazellulären Zellneubildung führen und so von innen heraus das Bild der Schachtelzelle erzeugen, möchten wir dahingestellt lassen.

Eine einzige Epithelzelle ist, wie oben schon erwähnt wurde, imstande, mehrere andere Zellen in sich aufzunehmen. Tafel 3, Fig. 12 zeigt eine aus 4 Zellen bestehende Schachtelzelle, bei welcher die eine der aufgenommenen Zellen bereits derb koaguliert ist und schollig erscheint, während die zweite zu gerinnen beginnt und die dritte noch im Stadium der ödematösen Quellung sich befindet. Mitunter tritt die bei der Gerinnung der phagocytierten Mantelzelle aus dem Eiweiß sich abscheidende Flüssigkeit in der Form von Tröpfchen an der Oberfläche der Mantelzelle auf; durch diese Vakuolen erhält das sonst rundliche Gebilde an der Oberfläche eine höckrige Beschaffenheit und gewinnt ein maulbeerartiges Aussehen.

Alle diese Einschlußzellen sind in frisch gefärbten Präparaten zahlreicher und typischer zu beobachten als in fixierten Schnittpräparaten, da ihre Struktur bei der Härtung meistens verloren geht. Auch die weitere Entwicklung dieser Gebilde läßt sich in frischgefärbten Präparaten gut verfolgen. Die eingeschlossene Zelle wird mit einer Vakuole umgeben, wohl infolge ihrer Verarbeitung durch die aktive Zelle. Diese Mehrarbeit der phagocytierenden Zelle scheint sie selbst oft zu schädigen und so zeigt sie vielfach ebenfalls die Zeichen der beginnenden Degeneration. Daß solche degenerierende Schachtelzellen von anderen Epithelien im ganzen aufgenommen werden können, wurde schon früher erwähnt.

Die Schachtelzelle ist in Präparaten von Hornhäuten, die mit Variola-Vaccinevirus infiziert worden sind, von der 20. Stunde an mittels der Frischfärbung sehr

häufig nachzuweisen. Daß die Massenhaftigkeit ihres Vorkommens für den Pockenprozeß in gewissem Grade charakteristisch, aber keineswegs spezifisch ist, wurde schon erwähnt. Auch dieser Zelltyp ist eine allen entzündlichen Reaktionen des Hornhautepithels gemeinsame Umbildungsform der Epithelzellen.

Auch die Riesenzellen (Tafel 3, Fig. 10, 11, 18) treten bei der Frischfärbung sehr deutlich hervor, klarer noch als im Schnitt, weil ihr Zellplasma in Frischpräparaten einen dunkleren Farbton annimmt als das Plasma der normalen und besonders der hydropischen Epithelien, so daß sie schon bei flüchtiger Durchmusterung sofort auffallen. Aus diesem Verhalten bei der Färbung könnten vielleicht gewisse Anhaltspunkte für die Entstehung dieser Gebilde abgeleitet werden. Die dunklere Färbung des Zellplasmas scheint dafür zu sprechen, daß es zäher, flüssigkeitsärmer ist als das der anderen Zellen. Wir möchten daher, wie oben bereits erwähnt wurde, als wahrscheinlich annehmen, daß diese Zellen durch eine lebhafte Proliferation und Teilung des Kernanteils entstehen, dem wegen der zähen Beschaffenheit des Plasmas ein Zerfall in einzelne Zellen nicht folgen kann. Für die Annahme, daß ein Zusammenfließen von Epithelien zur Bildung der Riesenzellen führt, lieferten uns die Frischpräparate keinen Anhaltspunkt. In diagnostischer Beziehung besitzen die Riesenzellen noch geringere Bedeutung als die vorher besprochenen Zellbildungen.

Regelmäßig treten in den frisch gefärbten Präparaten der mit Variola-Vaccinevirus infizierten Hornhaut auch Leukocyten auf, sie spielen aber im allgemeinen keine erhebliche Rolle und sind um so geringer an Zahl, je sorgfältiger das Auge vor dem Abkratzen des Epithels abgespült wurde. Es handelt sich vorwiegend um stark granulierte, gelapptkernige Zellen, die zwischen den Epithelien unregelmäßig zerstreut liegen. Am meisten zu beachten sind auch im frischen Präparat die zerfallenden Leukocyten. Die Kernelemente der Leukocyten färben sich im selben Ton wie die Guarnierischen Körperchen. Da Leukocyten und besonders die Trümmerstücke ihrer Kerne von Epithelzellen phagocytiert werden können, besteht die Möglichkeit zu Verwechselungen dieser Gebilde mit Guarnierischen Körperchen. Aber bei genauerem Zusehen geben die Kerntrümmer ihren Ursprung an der meist etwas unregelmäßigen, eckigen Gestalt zu erkennen. Wichtig sind ferner die durch den Zerfall der Leukocyten oft in sehr großer Menge frei werdenden Granula. Bei der Frischfärbung verhalten sich diese Körnchen in der Regel negativ. Sie stellen dann massenhafte helle runde Lücken in dem gefärbten Grunde dar, die gelegentlich vielleicht auch mit dem Variolaerreger oder den von Paschen beschriebenen Körnchen in Beziehung gebracht werden könnten.

Von besonderem Interesse war natürlich das Verhalten der Guarnierischen Körperchen bei der Frischfärbung. Bei der Schnittmethode ist der Nachweis der Einschlußkörperchen in den infizierten Epithelzellen Sache des Zufalls, die Körperchen erscheinen wohl als ein sehr spezifisches, aber keineswegs immer anzutreffendes Element des Impfeffekts. Die Gründe für dieses scheinbar seltene Vorkommen der Zelleinschlüsse in Schnitten durch die Hornhaut wurden bereits erörtert. War die von uns beschriebene Methode der Herstellung frisch gefärbter Präparate in der Tat geeignet, eine bessere Übersicht über die im beimpften Cornealepithel sich abspielenden Vorgänge zu liefern,

so mußte sie das durch eine Überlegenheit beim Nachweis der Guarnierischen Körperchen in erster Linie zeigen.

Was die Färbbarkeit der Einschlußkörperchen im frischen Präparat mit den oben angegebenen Farblösungen betrifft, so haben wir sie stets klar und scharf gefärbt erhalten und zwar nehmen die Gebilde im allgemeinen einen etwas tieferen Farbton an als die Zellkerne, sie verhalten sich färberisch etwa wie die Kernkörperchen. Einzelne Einschlüsse färben sich aber auch matter und in einem andern, etwas mehr rötlichen Farbton. Wie in den Schnittpräparaten schwankt die Größe der Körnchen zwischen kleinen Gebilden unter Kernkörperchenausmaß bis zu Kugeln von der drei- bis vierfachen Größe eines Kernkörperchens. Die Zahl der kleinsten Gebilde ist uns bei der Frischfärbung wesentlich größer erschienen, als in den Schnitten, einmal deswegen, weil sie im frischen Präparat durch ihre intensiv blauschwarze Farbe auf dem mattbläulichen Zellgrund mehr auffallen als in dem im ganzen gleichmäßiger stark gefärbten Gewebsschnitt, hauptsächlich aber wohl aus dem Grunde, weil die Methode eine bessere Übersicht über eine große Zahl von Zellen liefert. Von diesen kleinsten Gebilden führen alle möglichen Übergänge bis zu den großen Kugeln; je größer die Körper werden, um so blasser färben sie sich auch im frischen Präparat.

Wir sahen die Körperchen im frischen Präparat stets intrazellulär und meist in hellen, mit Flüssigkeit gefüllten Vakuolen liegen, wie sie auch andere ins Zellinnere aufgenommene Gebilde zu umgeben pflegen. Diese Vakuolen, die schon von vielen Autoren gesehen und beschrieben wurden, sind also natürlich und beruhen nicht etwa auf Schrumpfungsvorgängen, die bei der Schnittmethode infolge der Eingriffe bei der Härtung und Einbettung unvermeidlich sind, aber bei unserer Frischfärbung nicht eintreten können. Mögen diese Vakuolen bei der Einbettung vergrößert werden, jedenfalls sind sie aber primär vorhanden und nicht als Kunstprodukte anzusehen, wie einige Autoren wollen.

Die Guarnierischen Körperchen erscheinen in unsern frisch gefärbten Präparaten in der Regel völlig rund, seltener von ovaler Gestalt (Tafel 4, Fig. 24, 25c u. 4, 27). Manchmal sahen wir zwei kleine oder größere, oft auch ungleich große Körper, hantelförmig zusammenhängend in derselben Vakuole liegen (Vermehrungsstadien Guarnieris) (Taf. 4, Fig. 28). Gelegentlich lagen in unsern Präparaten auch viele, bis zu 12, Guarnierische Körperchen drusenartig zusammen (Tafel 2, Fig. 24; Tafel 3, Fig. 23; Tafel 4, Fig. 28). Die Mehrzahl der Körperchen färbt sich auch im frischen Präparat homogen und gleichmäßig stark. Aber in den größeren, weniger dichten Einschlüssen kann man mitunter zentral ein oder mehrere stärker gefärbte Körnchen wahrnehmen (Taf. 4, Fig. 26); es kann auch die ganze zentrale Partie etwa $^1/_3$ bis $^1/_2$ des Durchmessers eines Einschlußkörperchens dicht und stark gefärbt sein im Gegensatz zu den peripheren Teilen (Tafel 3, Fig. 23; Tafel 4, Fig. 28).

Zwischen den kleinen stark färbbaren Körnchen und den großen Einschlußkörperchen mit differenzierbaren Gebilden im Innern sind mit der Frischfärbemethode fließende Übergänge zu verfolgen. Die Formen mit abweichender Färbung der zentralen Teile können wohl mit den „Körperchen mit zusammenhängender erythrophiler

Mantelschicht" Hückels identifiziert werden, die auch v. Prowazek und v. Wasilewski als besondere Form des Guarnierischen Einschlusses beschreiben.

Ferner zeigte uns die Frischfärbemethode manchmal Körper, welche dem Kern halbmondartig ansitzen (Tafel 2, Fig. 23). Die Grundsubstanz dieser Gebilde färbt sich sehr licht, meist hellblau, und ist erfüllt mit vielen meist rötlich gefärbten Körnchen (Tafel 4, Fig. 29); manchmal ist die Färbung auch umgekehrt, indem die Grundsubstanz rosa, die in sie eingebetteten Körnchen dunkelblau erscheinen. Auch können die einzelnen kleinen Körner untereinander verschieden gefärbt sein (Tafel 4, Fig. 291). Derartige Gebilde erinnern lebhaft an die v. Prowazek-Halberstädterschen Trachomkörper. Ob sie in den Formenkreis der Variola-Vaccine-Einschlußkörperchen gehören, erscheint uns zweifelhaft. Aber gelegentlich zeigen die spezifischen Einschlußkörperchen die gleiche Struktur, eine lichtgefärbte Grundsubstanz mit stark gefärbten körnigen Einlagerungen (Tafel 4, Fig. 26) und können bei dichter Anlagerung an den Zellkern ebenfalls zu ovalen oder halbmondförmigen Gebilden sich umgestalten. Wir haben diese eigenartigen Zellkörper bisher nur in frisch gefärbten Präparaten und nur in Hornhäuten gefunden, die mit Variola oder, häufiger noch, mit Vaccinevirus infiziert waren, nicht in unspezifisch entzündeten Kontrollaugen.

Wir fanden die Guarnierischen Körperchen im Plasma aller Epithelzellen des Pockenimpfeffekts mit alleiniger Ausnahme der Riesenzellen. Besonders interessant sind die Bilder, die das Körperchen in Schachtelzellen eingeschlossen zeigt, wie Tafel 4, Fig. 25 zeigt. In solchen Bildern tritt der Unterschied eines Guarnierischen Körperchens gegenüber der phagocytierten homogenen Mantelzelle besonders deutlich hervor (Figur a und b).

Bezüglich der Zeit des ersten Auftretens der Einschlußkörperchen nach der Impfung lieferte uns die Frischfärbung schon nach 6 Stunden einwandsfreie positive Bilder. Wir fanden dann vereinzelte, kleine stark färbbare Körperchen. Nach 24 Stunden fanden wir in der Regel bereits reichliche, in Zellnestern zusammengelagerte kleinere Körper, vielfach auch mehrere Einschlüsse in einer Epithelzelle.

Natürlich wechselt das Ergebnis bezüglich der absoluten Zahl der Einschlüsse nach dem Ausgangsmaterial. Oft muß man bei der Entnahme nach 24 Stunden 10 oder 15 Gesichtsfelder durchmustern, ohne Guarnierische Körper zu finden, und stößt erst dann auf einen Herd, in dem fast jede Zelle einen Einschluß enthält.

Bei schwach virulentem oder keimarmem, beziehungsweise spärlichem Impfmaterial, nach dessen Verimpfung am zweiten Tage ein positiver Befund am Auge noch nicht erhoben werden konnte, gelang es dann am dritten, ja gelegentlich sogar erst am vierten oder fünften Tage, mittels der Frischfärbung den positiven Impferfolg nachzuweisen. Ist der Höhepunkt der Infektion überschritten, so sind die Guarnierischen Körperchen meist groß, blaß färbbar und haben eine verwaschene Innenstruktur. Wir möchten diese Gebilde als Alters- bezw. Degenerationsstadien der Guarnierischen Körperchen ansprechen.

Was nun unsere Ergebnisse mittels der Frischfärbemethode in diagnostischer Beziehung anbelangt, so haben wir die Guarnierischen Körperchen im Impfeffekt eines Variolavirus, das einen positiven Paulschen Versuch ergab, bisher nie vermißt.

Indessen sind unsere Versuche mit solchem Material noch nicht sehr reichlich. Doch scheint uns das bis jetzt erhaltene positive Ergebnis für die praktische Brauchbarkeit der Methode als Ergänzung des Paulschen Versuches zu sprechen. Bei der Impfung mit Vaccinevirus erhielten wir immer, abgesehen von Verdünnungen, die auch keine Paulsche Reaktion mehr ergaben, einwandfreie und reichliche, daher auch besonders bunte und mannigfaltige Befunde.

Bei der diagnostischen Verwertung der mit dem Frischfärbeverfahren nachgewiesenen Einschlußkörperchen ist der eine Punkt zu beachten, daß sich gelegentlich auch im Zellmaterial normaler, nur geritzter oder unspezifisch entzündeter Hornhäute vereinzelte runde oder ovale Körper in den Zellen finden, die morphologisch und färberisch eine so große Ähnlichkeit mit den Guarnierischen Körperchen zeigen, daß es schwer ist, sie von ihnen zu trennen (Tafel 3, Fig. 13 a—e u. 20, a u. b). Wir haben aber solche Gebilde in frisch gefärbten Zellen der normalen oder unspezifisch entzündeten Cornea immer nur vereinzelt gefunden, wie ja auch in Schnitten durch solche Hornhäute gelegentlich den Guarnierischen Körperchen ähnliche Einschlüsse öfters gefunden worden sind. Es ist daher, wie bei der Besprechung der Ergebnisse der Schnittmethode schon hervorgehoben wurde, nicht angängig, vereinzelte Zelleinschlüsse als Guarnierische Körperchen anzusprechen. Für die Diagnose ist immer neben der typischen Form und Färbung vor allem auch die Menge und das herdweise Auftreten der Gebilde von Bedeutung. Auch der Nachweis der Einschlußkörperchen bei der Diagnose der Variola-Vaccine hat somit einen quantitativen, keinen absolut spezifischen Charakter. Das ist aber wohl kein Grund, den Pockenkörperchen die Bedeutung spezifischer Gebilde abzusprechen. Die hier in Betracht kommenden intrazellulären Elemente stehen in ihrem Ausmaße nahe an der Grenze, die uns morphologische Unterschiede wegen der Kleinheit des Objekts überhaupt noch erkennen läßt, und unterliegen als intrazelluläre Gebilde in hohem Grade den physikalischen Einflüssen des Zellplasmas, so daß uns alle in den Hornhautepithelien eingeschlossenen Körperchen von gleicher Größe und ähnlicher physikalisch-chemischer Beschaffenheit auch ähnliche Gestalt zeigen und daher schwer unterscheidbar werden müssen. Die Spezifität der Guarnierischen Körperchen wird doch wohl durch das regelmäßige und massenhafte Auftreten in den beimpften Hornhautzellen, die selbst als ihre Erzeuger nicht angesprochen werden können, zur Genüge bewiesen.

Aus unseren Befunden konnten wir, von den auf ein gewisses Wachstum hindeutenden Größenunterschieden abgesehen, keinen Anhaltspunkt für die Annahme eines in bestimmter Weise geregelten, komplizierten Entwicklungsganges der Guarnierischen Körperchen gewinnen. Es ist freilich schwierig, die Entstehung der Guarnierischen Körperchen Schritt für Schritt zu verfolgen, da es leider nicht möglich ist, von demselben Auge, das allein eine zusammenhängende Entwicklungsreihe liefern kann, in kurzen Zwischenräumen Material für die Frischfärbung zu gewinnen. Entnimmt man das Material in größeren Zwischenräumen oder in kurzen Abständen von verschiedenen Augen einer Versuchsreihe, so erhält man doch immer nur ein einheitliches stets gleiches Bild, eine gleichmäßige oder herdweise Ausstreuung der Körperchen, deren einziger Unterschied, von den oben beschriebenen verhältnis-

mäßig seltenen Formen abgesehen, in ihren Größenverhältnissen liegt. Aus den morphologischen Verhältnissen der Zelleinschlüsse konnten wir auf eine biologische Ungleichwertigkeit der Gebilde niemals mit Sicherheit einen Schluß ziehen, außer daß wir die kleinen Körperchen als jüngere, die großen als ältere anzusehen geneigt waren. Es war uns aber nicht möglich, unter den kleinsten dieser Gebilde Formen zu erkennen, welche wir etwa als Initial- oder Elementarkörperchen, als wesentlich verschieden vom Guarnierischen Körperchen hätten ansprechen können. Wir fanden durchaus fließende Übergänge von den kleinsten Körnchen bis zu den größten der im Zellplasma liegenden Kugeln und regelmäßig wiederkehrende Unterschiede nur in bezug auf die Größe der Zelleinschlüsse, nicht hinsichtlich ihres Baues. Aus den geringen Abweichungen der Zusammenlagerung, der Innenstruktur und der Färbbarkeit ein System einander ungleichwertiger Entwicklungsphasen der Einschlußkörperchen aufzubauen, halten wir nach unseren Befunden nicht für notwendig. Wir fanden die Guarnierischen Körperchen immer vollkommen in sich abgeschlossen und haben nie beobachten können, daß sie sich etwa aus zwei Elementen zusammenfügen. Für eine Entstehung der Zelleinschlüsse aus Epithelzellkernteilen, in die das Virus nach der Anschauung v. Prowazeks einwandern soll, haben wir in unserem Material keine sicheren Anzeichen erkennen können. Wenn dieser Entstehungsmodus der Guarnierischen Körperchen der vorherrschende wäre, hätten wir zu irgend einer Zeit Kernteile finden müssen, die entsprechend der Menge der später zu beobachtenden Einschlußkörperchen in Ablösung vom Kern begriffen wären, aber noch im Zusammenhang mit ihm standen. Das ist jedoch niemals der Fall gewesen. Bei jeder Entnahme fanden wir stets die fertigen runden Guarnierischen Körperchen in wechselnder Größe und Anzahl vor, gleichgültig, ob der Impfeffekt 6 Stunden oder 48 Stunden alt war. Die Bilder, welche fortgesetzte Entnahmen lieferten, waren nur in bezug auf die Menge und die Größe der Einschlußgebilde verschieden. Und zwar fanden wir die Körperchen im allgemeinen um so reichlicher und um so größer, je näher die Infektion ihrem Höhepunkt stand. Gegen die Herkunft der Guarnierischen Körperchen vom Zellkern, die eine Gleichartigkeit der physikalisch-chemischen Verhältnisse beider Elemente zur Folge haben müßte, spricht nach unserer Meinung auch der Umstand, daß das Guarnierische Körperchen so häufig in einer tiefen Delle des Kernes liegt, die der Größe des Einschlußgebildes entspricht. Man hat oft durchaus den Eindruck, daß das Guarnierische Körperchen den Zellkern eingebuchtet hat. Etwas derartiges ist aber doch wohl nur möglich, wenn Körper von verschiedenartiger Konsistenz unter gewissem Druck zusammentreffen. Gebilde von gleicher Dichte, die in ihren Größenverhältnissen nicht allzusehr verschieden sind, dürften einander wohl abplatten, aber nicht einbuchten. Da aber solche Einbuchtungen des Zellkerns durch ein ihm benachbartes Einschlußkörperchen häufig sind, möchten wir annehmen, daß das Guarnierische Körperchen eine festere Konsistenz, bezw. eine größere Spannung und damit wahrscheinlich auch eine abweichende Zusammensetzung besitzt wie der Kern der Epithelzelle, mit dem er daher in seiner Entstehung nichts zu tun haben dürfte.

Wollen wir uns nach diesen Befunden ein Bild über die Entstehungsweise der Einschlüsse machen, so scheint uns nur die Annahme möglich, daß die Gebilde innerhalb

der Zelle von kleinsten Anfängen aus sich heraus zu den größeren Körnchen heranwachsen. Würden sie von den Zellen aufgenommen, wenn sie schon eine gewisse Größe besitzen, dann müßte man die Gebilde öfters auch extrazellulär liegen sehen. Das ist aber nicht der Fall, wir sahen sie stets in Zellen eingeschlossen.

Das Heranwachsen der Einschlußkörperchen erfolgt nicht sprungweise und unter morphologischen Zustandsänderungen, sondern in einer kontinuierlichen Reihe von den kleinsten Körnchen bis zu den großen Kugeln. Wir möchten annehmen, daß die Einschlußkörperchen nicht homogen, sondern aus einer großen Zahl kleiner Elemente zusammengefügt sind, worauf wir die Verschiedenheiten in der Färbung der einzelnen Körperchen und das gelegentliche Hervortreten von Innenstrukturen, von anders gefärbten Körnchen im Innern der größeren Gebilde zurückführen möchten. Da wir das echte Guarnierische Körperchen auch nach unseren Untersuchungen durchaus als spezifisch für den Pockenprozeß ansehen müssen, da wir nichts beobachtet haben, was für eine Herkunft der Körperchen von irgendwelchen geformten Elementen der Zelle sprechen könnte; und da wir wissen, daß das Pockenvirus eine ultravisible filtrierbare Einheit besitzt, so ist uns gegenwärtig die Annahme am wahrscheinlichsten, daß das Guarnierische Körperchen die uns sichtbare Erscheinungsform einer großen, dichtgedrängten Menge solcher Viruseinheiten darstellt, gewissermaßen eine intrazelluläre Kolonie des Pockenerregers, die durch die Konsistenzverhältnisse des Plasmas der Epithelzelle in ähnlicher Weise zusammengehalten wird, wie eine Bakterienkolonie im festen Nährboden. Wir möchten ferner annehmen, daß das Guarnierische Körperchen von dem Pockenerreger in seinem Werdegang nicht notwendig durchlaufen werden muß, daß es vielmehr eine durch die Besonderheit der intrazellulären Lage als Ausnahme entwickelte Erscheinungsform des Erregers ist, dessen Wachstum und Vermehrung außerhalb der Zellen in ganz anderer Weise vor sich gehen mag.

Was die Beziehungen zwischen dem Variola- und dem Vaccinevirus anbelangt, so können wir auch aus unseren Ergebnissen mit der Frischfärbemethode nur Momente anführen, die für eine völlige Wesensgleichheit beider Virusarten und für Differenzen ausschließlich funktioneller und quantitativer Natur sprechen, die durch Unterschiede in den Virulenzverhältnissen und im Virusgehalt des Ausgangsmaterials genügend erklärt werden.

Verimpft man frische unverdünnte Lymphe, so sieht man schon nach 24 Stunden im Frischpräparat eine große Menge von Guarnierischen Körperchen. Oft findet man in jedem zweiten oder dritten Gesichtsfelde einen Zellherd mit Einschlüssen.

Verimpft man aber ältere, zwei bis drei Monate aufbewahrte Lymphe, so erhält man zwar dieselben Bilder, aber erst zwei oder drei Tage nach der Impfung. Auch sind die Körperchen in den einzelnen Herden etwas weniger reichlich. Das Ergebnis gleicht dann schon etwas mehr dem Befunde bei einer stark angegangenen Variolaimpfung. Noch größer wird die Übereinstimmung mit dem Bilde der Variola-infizierten Hornhaut, wenn man Vaccineverdünnungen zur Impfung benutzt. Wir fanden Guarnierische Körperchen nach der Impfung mit Vaccine-Verdünnungen bis zur Grenze von 1 : 10000 und zwar ebenfalls herdweise und in denselben Formen wie bei Präparaten von Variolamaterial. Tafel 4, Fig. 24 zeigt

einen solchen Herd von einer Cornea, welche mit einer Lymphe-Verdünnung im Verhältnis von 1 : 10000 beimpft worden war. Allerdings ist das Präparat erst am 4. Tage nach der Impfung gewonnen worden. Die Vaccinelymphe ist nur durch den reichlichen Virusgehalt und die stärkeer Virulenz der Erreger für die Kaninchenhornhaut vom Pustelinhalt der Variola verschieden. Das ergibt sich auch daraus, daß sich nach unseren Erfahrungen der Variolaerreger durch Passagen ziemlich leicht an das Kaninchenauge gewöhnen läßt und dabei eine Steigerung seiner Virulenz für die Hornhautepithelen erfährt. In einer solchen Passagenreihe hatte z. B. das mit Variolamaterial zuerst beimpfte Auge am dritten Tage ein schwach positives Ergebnis geliefert, d. h. es waren nur vereinzelte Herde mit spärlichen Guarnierischen Körperchen aufgetreten. Nun wurden Epithelstückchen dieses ersten Auges auf ein anderes Auge verimpft und solche Passagen von Auge zu Auge noch 6 mal wiederholt. Es zeigte sich, daß bei jeder Passage die Herde der Einschlußkörperchen und auch die Guarnierischen Körperchen selbst reichlicher wurden, ohne Änderungen ihrer morphologischen und sonstigen Eigenschaften, und bei der 7. Passage waren die Herde bereits so zahlreich vorhanden, wie etwa bei einer Impfung mit älterer Vaccinelymphe. Durch die Passage waren also auch die quantitativen Unterschiede der beiden Virusarten fast zum Verschwinden gebracht worden.

Daß die übrigen, rein histologischen Veränderungen des Hornhautepithels, der Zellhydrops, die Bildung der Mantel-, Schachtel- und Riesenzellen nach der Impfung mit Variola- und Vaccinematerial in vollkommen übereinstimmender Weise verlaufen, wurde schon erwähnt. Aber auch hier machen sich quantitative Unterschiede zugunsten des Vaccinevirus bemerkbar. Augen, die mit stärkeren Konzentrationen von frischer Lymphe beimpft wurden, zeigen die eigenartigen Veränderungen der Epithelzellen viel reichlicher als variolainfizierte Augen. Das ist eine Folge des stärkeren entzündlichen Reizes, den das Vaccinevirus auf die Kaninchenhornhaut ausübt. Und daß das Auftreten dieser so eigenartigen Zellbilder im wesentlichen nur eine Entzündungserscheinung ist, zeigte sich uns bei der Untersuchung zahlreicher Kontrollaugen mit Hilfe der Frischfärbung. Wir haben als Kontrollen mit der Frischfärbemethode das Hornhautepithel von Augen untersucht, die entweder nur geritzt worden waren, wie zur Vorbereitung für den Paulschen Versuch, oder nach der Ritzung mit verschiedenen chemischen, entzündungserregenden Stoffen behandelt wurden, so mit Ricin oder Terpentinöl. Wir haben auch zelliges Material auf geritzte Augen aufgebracht, z. B. abgetötete Vaccinelymphe, Leukocyten und rote Blutkörperchen, um deren Bedeutung für die Entstehung von Zelleinschlüssen kennen zu lernen.

Ricin erwies sich im allgemeinen als ein zu heftiges Reizmittel, das durch Anlockung massenhafter Eiterzellen eine von der Pockenepitheliose ganz abweichende Entzündung hervorruft. Dagegen konnten wir mit Terpentinöl eine bald verheilende, mäßige, zwar diffus ausgebreitete, aber mit einer gewissen Proliferation des Epithels verbundene Entzündung hervorrufen, die in dem Grade der entzündlichen Reizung schon eher dem Bild der Pockenveränderung des Augenepithels ähnelte. Auch das einfach geritzte Epithel reagierte manchmal mit ähnlichen Zellveränderungen wie nach der Impfung mit Pockenvirus. In solchen Kontrollaugen fanden wir mit der Frisch-

färbung bereits drei Stunden nach dem Ritzen einzelne Riesenzellen, wie sie oben beschrieben wurden. Wir sahen mitunter auch Zellen, deren Umfang einer normalen Epithelzelle ungefähr entsprach, welche aber zwei, drei, ja bis zu fünf Kerne in ihrem Innern aufwiesen. Manchmal beobachteten wir auch Riesenkernbildungen bei normal großen Epithelzellen (Tafel 1, Fig. 19). Nach 24 Stunden fanden wir starken Zellhydrops, Mantelzellen und vereinzelte Schachtelzellen, die 48 Stunden nach der Ritzung reichlicher vorhanden waren, nach 72 und 96 Stunden bereits an Zahl abnahmen, um mit der fortschreitenden Heilung zu verschwinden. Alle diese Zellbildungen sind der Ausdruck einer vermehrten Abstoßung und überstürzten Neubildung des Epithels, sie werden sich also überall da in besonderer Menge einstellen, wo das Epithelgewebe unter dem Einfluß proliferativer Reize steht. Das Variola-Vaccinevirus stellt einen besonders starken Reiz dieser Art dar. Es gibt aber vielleicht noch andere Virusarten, die solche Reize auszuüben vermögen. So haben Paschen und Gins die Bildung epithelialer Riesenzellen nach Impfung der Hornhaut mit Windpockenmaterial als typisch und diagnostisch wichtig beschrieben. Nach unsern Erfahrungen dürften diese Riesenzellen ebensowenig eine streng spezifische Neubildung sein, wie die Zellneubildungen im Pockenimpfeffekt der Hornhaut. Daß aber die verschiedenen Virusarten dem wechselnden Charakter ihres entzündlichen Reizes entsprechend bald die eine, bald die andere der atypischen Zellneubildungen vorzugsweise hervorrufen mögen und so den einzelnen Zellarten eine relative diagnostische Bedeutung für diesen oder jenen Prozeß zukommen mag, soll nicht geleugnet werden.

Unsere Kontrollen belehrten uns weiterhin, daß dem Nachweis vereinzelter runder, stark färbbarer Einschlüsse in den Epithelzellen ein diagnostischer Wert im Sinne einer Variola-Vaccineinfektion keineswegs zukommt. Es gibt eine ganze Anzahl von Doppelgängern der Guarnierischen Körperchen, die von den echten zu unterscheiden sehr schwer, oft unmöglich ist.

Am schwersten von den Pockenkörperchen zu trennen sind die sogenannten Chromidien. Sie treten in spärlicher Anzahl ziemlich regelmäßig in einfach geritzten und in Terpentinaugen, auch in den Epithelzellen normaler Augen auf und sind gekennzeichnet als runde oder ovale mit Methylenblau und Kresylechtblau stark färbbare Gebilde, welche meist zum Kern in nahen räumlichen Beziehungen stehen und manchmal auch von einer Vakuole umgeben sein können (Tafel 3, Fig. 13 c u. e, 20 b). Sie erinnern also in ihrem Habitus sehr an Guarnierische Körperchen und unterscheiden sich von diesen hauptsächlich dadurch, daß sie nur spärlich, mehr gelegentlich, nicht in herdartigen Ansammlungen in zahlreichen benachbarten Epithelzellen vorkommen. Diese Chromidien, die man übrigens öfters noch in direktem Zusammenhange mit dem Zellkern sehen kann, haben im allgemeinen die Größe mittlerer Guarnierischer Körperchen. Liegen rundliche Körperchen vom Zellkern getrennt im Plasma, dann sind sie mit Sicherheit nicht mehr als Chromidien zu bezeichnen. Vielfach mögen solche Gebilde extrazellulärer Herkunft und durch Phagocytose ins Zellinnere gelangt sein. Vielleicht sind die Leukocyten öfters die Ursprungsstätte dieser körnigen Einschlüsse. Wir haben mitunter in den Leukocyten normaler Kaninchen, besonders im Peritonealexsudat, in großer Zahl Einschlüsse gefunden,

welche stark an Guarnierische Körperchen und auch an Kurloffkörperchen erinnern (Tafel 3, Fig. 19a—g). Es ist uns nicht gelungen, diese eigenartigen Gebilde durch Verimpfung der sie enthaltenden Eiterkörperchen auf das Kaninchenauge in den Epithelzellen der Kaninchenhornhaut anzusiedeln. Doch halten wir es nicht für ausgeschlossen, daß diese Körper mit den wandernden Leukocyten in die Hornhaut gelangen, durch Zerfall der Eiterkörperchen frei und dann von den Epithelzellen aufgenommen werden. Auf diese Weise könnten den Guarnierischen Körperchen sehr ähnliche Einschlüsse zustande kommen.

Daß Kerntrümmer der Leukocyten häufig von Epithelzellen aufgenommen werden und dann Guarnierische Körperchen vortäuschen können, haben wir öfters beobachtet. Diese Art von „Pseudo-Guarnierikörpern" ist aber nicht so gefährlich für die Diagnose wie die Chromidien, da sie an ihrer unregelmäßigen Gestalt meist leicht als zelluläre Zerfallsprodukte zu erkennen sind. Die Kerntrümmer der Lymphe bezw. des Pockenpustelinhalts kommen übrigens als Ursprung der Guarnierischen Körperchen nicht in Betracht, da wir in allen Versuchen, mit abgetöteter Lymphe oder menschlichem Eiter anderer Herkunft das typische Bild der Guarnierischen Einschlußkörperchen zu erzeugen, nur negative Ergebnisse erhielten. Ebenso ergebnislos waren auch unsere Versuche mit Erythrocyten.

Eine gewisse Ähnlichkeit mit den Guarnierischen Einschlußkörperchen können weiterhin Trümmerstücke des Kerns degenerierender Epithelzellen besitzen. Solche Kerntrümmer haben meist auch rundliche Gestalt, färben sich blasser oder dunkler als normale Kerne, oft heterochromatisch, und zeigen in ihrem Innern manchmal andersgefärbte Körnchen, so daß sie organisierte Gebilde vortäuschen können. Mitunter findet man degenerierende Epithelzellen, die ganz mit diesen runden, rötlich und bläulich gefärbten Kernkugeln erfüllt sind (Tafel 3, Fig. 23; Tafel 4, Fig. 27 und 29). Solche Zellen bieten natürlich keinen Anlaß zu einer Verwechslung mit Guarnierischen Körperchen. Liegt aber ein einzelnes dieser Trümmerstücke allein in einer Zelle, dann dürfte die Unterscheidung von Guarnierischen Einschlüssen nicht immer leicht sein.

Allen diesen Irrtumsmöglichkeiten gegenüber, die natürlich für die Schnittmethode in dem gleichen Umfange gelten wie für das Frischfärbeverfahren, kommt in erster Linie als Unterscheidungsmoment, wie nochmals betont werden soll, die reichliche Aussaat der echten Guarnierischen Körperchen in herdförmiger Zusammenlagerung innerhalb benachbarter Zellgruppen in Betracht. Wo diese Anordnung gefunden wird, geht man mit der Diagnose auf spezifische Einschlußkörperchen wohl niemals fehl.

Im Anfang unserer Untersuchungen sind von uns auch die beim Zerfall eosinophiler Leukocyten freigewordenen Granula, die sich im eitrigen Conjunctivalsekret und mitunter auch zwischen den Epithelzellen und den Corneallamellen in der Umgebung des Pockenimpfeffektes in Masse ansammeln, in Verbindung mit dem Pockenvirus gebracht worden, indem wir annahmen, daß diese meist als ungefärbte Körnchen hervortretenden kleinen Gebilde mit der von Paschen beschriebenen Körnchenform des Pockenerregers vielleicht etwas zu tun haben könnten. Mit Giemsalösung gefärbte

Präparate klärten uns dann bald über die wahre Natur dieser Körnchen auf. Bei der Deutung kleinster Körnchen, mögen sie frei im Präparat liegen oder in Zellen eingeschlossen sein, ist größte Vorsicht am Platze. Besonders in den Leukocyten des Kaninchens finden sich, wie schon erwähnt wurde, normalerweise sehr eigenartige und scheinbar organisierte Einschlußgebilde, aus deren verschiedenartigen Formen man leicht mannigfache Entwicklungsstadien herauslesen kann. Für den Pockenprozeß charakteristische Einschlußgebilde in Leukocyten, wie sie Gins neuerdings beschrieben hat, konnten wir bei eingehender Rücksichtnahme auf normale Kontrollpräparate nicht mit Sicherheit erkennen

Hier mögen noch einige Bemerkungen über unsere Erfahrungen hinsichtlich der diagnostischen Bedeutung der von Paschen in Ausstrichen von Pockenpustelmaterial und Vaccinelymphe beschriebenen Körnchen Platz finden, obwohl wir ein endgültiges Urteil über die Bedeutung und die allgemeine praktische Verwertbarkeit des Nachweises dieser kleinsten Elemente noch nicht abzugeben vermögen.

In der Mehrzahl der Fälle, in denen wir Ausstriche von Pockenpusteleiter nach der Methode Paschens, in der uns der Autor selbst zu unterweisen die Güte hatte, untersuchen konnten, waren die Paschenschen Körnchen in der Tat in solcher Menge nachzuweisen, wie sie in Eiterausstrichen anderer Herkunft nicht gefunden werden. In manchen dieser Präparate waren die Paschenschen Körnchen außer durch ihre ungeheure Menge namentlich auch durch die eigenartige Verteilung auffallend. Die Körnchen zeigten sich nicht gleichmäßig über den ganzen Ausstrich ausgesät, sondern hafteten in besonderer Menge an einzelnen Gruppen von Zellen und fanden sich auch in deren Innerem, während andere Teile des Präparats mehr oder weniger frei von den Körnchen waren. Der Anblick solcher Präparate erweckte in der Tat den Eindruck, daß es sich hier um besondere, organisierte, spezifische Gebilde handele und nicht um normale oder durch Degenerationsvorgänge gebildete Granula, die sich doch wohl gleichmäßig über das ganze Präparat verteilt finden müßten. In einem Falle lagen die in großer Zahl vorhandenen Körnchen in annähernd gleich großen, etwa 50 bis 100 solcher Gebilde umfassenden Gruppen zusammen. Das Bild erinnerte lebhaft an einen Agglutinationsvorgang. Die praktische Bedeutung der Paschenschen Körperchen für die Pockendiagnose wird dadurch beeinträchtigt, daß sie in geeigneten Ausstrichen virulenter Materialproben nicht immer zu finden sind. In manchen Fällen war die Zahl der Körnchen nicht größer, als in einem beliebigen, nicht spezifischen Eiterausstrich. Ausstrichpräparate von infizierter Kaninchenhornhaut und Vaccinepusteln des Kaninchens ergaben ebenfalls negative oder unklare Resultate. Diese wechselnden Ergebnisse sprechen wohl noch nicht gegen die spezifische Natur der Paschenschen Körnchen. Wir möchten glauben, daß uns in ihnen das Pockenvirus, dessen Einheit vielleicht noch kleiner ist als ein solches Körperchen, in einer besonderen, sichtbaren und färbbaren Form vorliegt, die nicht regelmäßig, sondern nur unter bestimmten Umständen auftritt. Unsere Versuche, andere Merkmale der Pockenkörnchen, insbesondere färberischer Natur, ausfindig zu machen, die ihre Unterscheidung von belanglosen Eiweißgranula und dadurch die Diagnose auch bei spärlichem Vorhandensein ermöglichen könnten, sind bisher erfolglos gewesen. Wir glauben

aber nach allem, daß die Paschenschen Körperchen eine eingehende Beachtung verdienen, und daß sie bei der weiteren Erforschung der Variola-Vaccine eine wichtige Rolle spielen werden.

Bei dem gegenwärtigen Stande der Frage ist aber die praktische Pockendiagnose allein mittels der Paschenschen Körnchen in Eiterausstrichpräparaten wohl noch nicht allgemein möglich. Zunächst bedürfen wir noch des Kaninchenauges als Reagens auf das Pockenvirus. Für den Nachweis der durch den Erreger auf der Hornhaut hervorgerufenen spezifischen Veränderungen sind nach unseren Erfahrungen der makroskopisch durchgeführte Paulsche Versuch und das Aufsuchen der Einschlußkörperchen im mikroskopischen Frischpräparat der Hornhaut gleich gut geeignet. Unser Versuchsmaterial, in dem diese beiden Methoden gleichzeitig nebeneinander angewandt wurden, ist bis jetzt noch nicht groß. Es umfaßt Untersuchungen mit dem Pusteleiter von zehn pockenverdächtigen Krankheitsfällen, ferner Versuche mit verschiedenen Proben von Vaccinelymphe in wechselnden Verdünnungen und mit 28 verschiedenartigen Kontrollmaterialproben.

Wir konnten dabei eine völlige Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden feststellen. Überall, wo die makroskopische Methode das Vorhandensein Paulscher Herde ergab, konnten wir in den Frischpräparaten einen positiven Befund an Guarnierischen Körperchen erheben, wobei sich die Einschlußgebilde stets in beträchtlicher Menge und in herdförmiger Verteilung nachweisen ließen. Sämtliche Kontrollen und vier der pockenverdächtigen Materialproben gaben übereinstimmend negative Untersuchungsresultate. Bei den Lympheverdünnungen erhielten wir im allgemeinen bis zur gleichen Konzentration positive Befunde, dabei lieferte die Frischfärbung das positive Ergebnis manchmal etwas früher als der Paulsche Versuch. Man kann nämlich bei Beimpfung der ganzen Fläche einer Hornhaut mehrere Entnahmen von ihr machen, wenn man die vier Quadranten nacheinander vorsichtig abkratzt und das gewonnene Material der Färbung unterwirft. Bei diesem Vorgehen liefert die Frischfärbung nicht nur ein sehr geeignetes Kontrollverfahren für den Paulschen Versuch, sondern zugleich auch einen Anhaltspunkt dafür, wann es an der Zeit ist, das beimpfte Auge herauszunehmen und der Härtung zu unterwerfen. Eine solche mikroskopische Vorprobe ist besonders dann von Wert, wenn es sich um den Nachweis stark verdünnten oder schwach virulenten Materials handelt, da nach unseren Erfahrungen in solchen Fällen selbst vier Tage vergehen können, ehe der Impfeffekt nach dem Paulschen Verfahren deutlich nachweisbar wird. Ein Nachteil der Frischfärbemethode liegt darin, daß sie es nicht gestattet, Dauerpräparate zu gewinnen. Beim Eintrocknen des Materials mit der Farblösung entstehen Niederschläge, Überfärbungen und starke Schrumpfungen, unter denen das Bild der Zellen und ihrer Einschlüsse sehr leidet.

Die vollkommene Übereinstimmung zwischen der makroskopischen Nachweismethode Pauls und dem Frischfärbeverfahren der Einschlußkörperchen, wie sie sich bei unserm allerdings bisher noch kleinen Material ergeben hat, zeigt, daß die Frischfärbemethode bei der Varioladiagnose in der Praxis wertvolle Dienste leisten kann und wegen ihrer Einfachheit und der Schnelligkeit, mit der sie in der Hand eines mit ihr vertrauten Untersuchers sichere Ergebnisse liefert, sich namentlich zur gleich-

zeitigen Anwendung neben dem Paulschen Verfahren eignet. Auch halten wir es für sehr wohl möglich, daß das Frischfärbeverfahren bei Anwendung anderer, noch besser geeigneter Farblösungen, die vielleicht eine schärfere Differenzierung der verschiedenen Zelleinschlüsse und einen tieferen Einblick in ihre Struktur gestatten, unter Umständen vollkommenere Resultate ergeben kann. Jedenfalls möchten wir aber schon jetzt nachdrücklich auf die in der Pockenforschung bisher ohne genügenden Grund etwas vernachlässigte Methode der Färbung und Untersuchung möglichst lebensfrischer Präparate hinweisen und ihre Anwendung empfehlen.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit werden die im Reichsgesundheitsamt bisher mit der Paulschen Methode des Pockennachweises gesammelten Erfahrungen beschrieben. Das Verfahren hat sich für die praktische Diagnose als sehr brauchbar erwiesen, da es bei sicheren Pockenfällen in 82% positive, bei andersartigen Erkrankungen aber fast durchweg negative Versuchsergebnisse lieferte.

Der Paulsche Augenversuch eignet sich zum Nachweis selbst geringer Mengen von Variola-Vaccinevirus. Er ist daher einerseits für die Erforschung der Epidemiologie und Pathogenese der Pocken wertvoll und hat uns in dieser Richtung mit dem Nachweise des Virus im Blute und im Auswurf Pockenkranker schon bemerkenswerte Ergebnisse geliefert; er könnte wohl auch mit Vorteil für die quantitative Auswertung der Wirksamkeit von Impflymphen Verwendung finden.

Der Verdünnungsgrad des Virus ist von Einfluß nicht nur auf die Zahl, sondern auch auf die Entwicklungsdauer der cornealen Impfknötchen. Je virulenter, je reicher an Virus ein Impfmaterial ist, um so schneller erlangen die Effloreszenzen der Hornhaut ihre optimale Entwicklung. Im allgemeinen genügt bei Impfung mit Variolamaterial eine 48stündige Frist für die Ausbildung der Pockenherde auf der Hornhaut. Aber bei der Prüfung spärlichen, stark verdünnten oder gealterten Materials kann eine längere Beobachtungsdauer große Vorteile bieten, indem ein nach 48 Stunden negatives Ergebnis bei längerer Beobachtung am selben Tier in ein positives Resultat umschlagen kann.

Der Paulsche Augenversuch ergibt meist schon bei alleiniger Berücksichtigung der makroskopisch sichtbaren Hornhautveränderungen für die praktische Diagnose genügend sichere Resultate. Es ist aber doch angezeigt, das Ergebnis der makroskopischen Untersuchung durch die mikroskopische Prüfung der beimpften Hornhaut jeweils zu kontrollieren.

Die Schnittmethode arbeitet bei vielen sonstigen Vorzügen für diesen Zweck zu umständlich und zu unsicher, da nur in einem verhältnismäßig kleinen Prozentsatz der geschnittenen Pockenaugen, die im Paulschen Versuch positiv waren, der Nachweis der Guarnierischen Körperchen gelang.

Es wird eine Methode der Verarbeitung des lebensfrischen Zellmaterials beimpfter Augen zu gefärbten Präparaten beschrieben, die schnell und einfach arbeitet und bisher bezüglich des Nachweises Guarnierischer Körperchen völlig übereinstimmende Ergebnisse mit dem Befund von Pockenherden im Paulschen Versuch

ergab. Diese Frischfärbemethode hat sich auch für das Studium der morphologisch-histologischen Verhältnisse der cornealen Pockenherden und besonders bezüglich der Guarnierischen Einschlußkörperchen als gut geeignet erwiesen.

Der corneale Impfeffekt ist seiner histologischen Natur nach eine Epitheliose, bedingt durch eine lokalisierte Wucherung des Epithels, die von Degeneration und Zerfall gefolgt ist. Im Verlauf dieser Entwicklung treten vier verschiedene Typen von Epithelzellen im Pockenherde auf, die als ödematöse Zelle, als Mantel-, Schachtel- und Riesenzelle näher gekennzeichnet werden. Diese Zellen sind nicht für den Pockenprozeß spezifisch, sondern den Cornealepithelzellen physiologisch vorgezeichnete Stadien der Degeneration und des Zelltodes. Sie entstehen bei allen entzündlichen Reizen in größerer Menge als unter normalen Verhältnissen, durch die Variola-Vaccineinfektion jedoch wird ihre Bildung in stärkerem Grade angeregt als durch irgend einen anderen entzündenden Reiz. In der Masse ihres Auftretens sind sie daher für den Pockenprozeß in gewissem Grade charakteristisch.

Die degenerierenden Epithelzellen nehmen mitunter Formen an, die zu Verwechslungen mit Guarnierischen Körperchen Anlaß geben können.

Die Guarnierischen Körperchen sind für die Pockeninfektion der Kaninchenhornhaut spezifische Gebilde. Es gibt aber Doppelgänger dieser Körperchen außer den schon angeführten degenerierenden Epithelzellen in den sogenannten Chromidien und in phagocytierten Kerntrümmerstücken, insbesondere von Leukocyten. Ein einzeln gelegener Zelleinschluß kann nicht mit Sicherheit als Guarnierisches Körperchen angesprochen werden. Die Diagnose kann einwandfrei positiv nur beim Vorhandensein einer größeren Zahl von Einschlüssen in herdförmiger Aussaat gestellt werden, besonders im Frischpräparat.

Die Guarnierischen Körperchen sind sehr gleichartig gebaut und untereinander im wesentlichen nur durch Größendifferenzen verschieden. Sie lassen aus ihren morphologischen Verhältnissen einen komplizierteren, sprungweisen Entwicklungsgang nicht erkennen, sondern sind durch fließende Übergänge zwischen den kleinsten und den größten Formen verbunden. Sie entwickeln sich aus sich selbst heraus, ohne daß sich geformte Zellbestandteile an ihrem Aufbau beteiligen. Mitunter zeigen die größeren und blasseren Formen in ihrem Innern eine kleinere oder größere Zahl stärker und oft heterochromatisch gefärbter Körnchen. Die Guarnierischen Körperchen werden als Vielheit des in seiner Einheit unsichtbaren Pockenerregers, gewissermaßen als intrazelluläre Kolonien desselben aufgefaßt, deren Entwicklung durch die besondere Beschaffenheit des Epithelzellplasmas bedingt wird.

Die von Paschen in Ausstrichen von Pockenpusteleiter beschriebenen Körperchen dürften gleichfalls spezifischer Natur sein, vielleicht ebenfalls eine besondere Erscheinungsform des Pockenerregers. Für die Pockendiagnose ist der Nachweis dieser Körperchen insofern noch verbesserungsbedürftig, als er bis jetzt nicht gestattet, wenige dieser Gebilde als solche unter den in jedem Ausstrich von Eiter zahlreich vorhandenen Eiweißgranula zu erkennen und da die Körnchen in einer ihre Erkennung schon jetzt gestattenden Masse sich nicht in jedem Falle oder in jedem Stadium der Pocken vorzufinden scheinen.

Literaturverzeichnis.

Friedemann, U., und Gins, H. A., Experimentelle Untersuchungen über die Übertragung von Pocken. Deutsche med. Wochenschrift Nr. 37, 1917, S. 1159.

Gins, H. A., Mitteilungen über experimentelle Vaccine. Verh. der Berl. mikrobiolog. Ges. 1915.

Derselbe, Ein Beitrag zur Beurteilung der Dauer des Pockenimpfschutzes. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 38, S. 1155, 1916.

Derselbe, Erfahrungen mit der experimentellen Pockendiagnose nach Paul. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 37, S. 1118, 1916.

Derselbe, Über experimentelle Vaccine und Vaccineimmunität. Zeitschrift f. Hyg. Bd. 82, 1916.

Derselbe, Über histologische Veränderungen und bisher unbekannte Zelleinschlüsse in der mit Windpockeninhalt beimpften Kaninchenhornhaut. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 86, 1918.

Grüter, W., Kritische und experimentelle Studien über die Vaccineimmunität des Auges und ihre Beziehungen zum Gesamtorganismus. Archiv f. Augenheilkunde Bd. 70, 1912.

Guarnieri, Ricerche sulla patogenese ed etiologia dell' infezione vaccinica e variolosa I. Arch. p. l. scienze mediche 1892, Vol. XVI, Nr. 22.

Derselbe, Sui parasiti dell variolo e del vaccino. Atti dell XI Congresso medica internazionale Rome 1894. Vol. II.

Hallenberger, Entwicklungsgang der Pocken-Epitheliose auf der Kaninchenhornhaut. Deutsche med. Wochenschrift Nr. 3, S. 73, 1918.

Derselbe, Zur Ätiologie der Variola. Medizinische Klinik Nr. 24, S. 652, 1917.

Derselbe, Beitrag zur Ätiologie der Variola. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 80, H. 1/3. 1917.

Hammerschmidt, J., Die Genese der Einschlußkörper in der Haut bei einigen Chlamydozoenerkrankungen. Wiener klin. Wochenschrift 1918, Nr. 10.

Heymann, Trachom Kolle Wassermann. Handb. der pathogenen Mikroorganismen Bd. 8, 1913.

Hückel, A., Die Vaccinekörperchen. Aus Zieglers Beiträgen zur Pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie. 2. Supplement-Heft. Jena 1898.

Jürgens, Epidemiologische Beobachtungen über Pocken. Berl. klin. Wochenschrift Nr. 14. 1914.

Kyrle und Morawetz, Tierexperimentelle Studien über Variola. Wiener klin. Wochenschrift 1915.

Lentz, Verhandl. der Berl. mikrobiolog. Ges. 1915, S. 3.

Mühlens und Hartmann, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. Zentralbl. f. Bakt. Bd. XLI, p. 41, 203, 338, 435, 1906.

Paschen, E., Über den Erreger der Variola-Vaccine. Immunitätsverhältnisse bei Variola-Vaccine in Kraus-Levaditis Handbuch der Technik und Immunitätsforschung. [1. Ergänzungsband 1917].

Paschen, E., Vergleichende Untersuchungen von Varizellen, Variola, Masern und Röteln. Deutsche med. Wochenschrift Nr. 24, S. 746, 1917.

Derselbe, Über Varizellen. Dermatologische Wochenschrift Nr. 21, S. 488, 1917.

Derselbe, Zur histologischen Technik des Cornealversuches bei der Pockendiagnose. Deutsche med. Wochenschrift Nr. 29, 1917.

Paul, G., Zur Differentialdiagnose der Variola und der Varicellen. Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 75. 1918.

Derselbe, Zur histologischen Technik des Cornealversuches bei der Pockendiagnose. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 29. 1917.

Derselbe, Über Mischinfektionen auf der Kaninchenhornhaut bei der experimentellen Pockenepitheliose. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 80, Heft 6, 1918.

Prowazek, St. v., Untersuchungen über Vaccine. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1905, Bd. 22.

Derselbe, Untersuchungen über die Erreger der Vaccine II. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1906, Bd. 23.

Prowazek, St. v., Zur Kenntnis der Regenerationsvorgänge in der Kaninchencornea. Zoolog. Anzeig. 1906, Bd. 29.

Prowazek, St. v. und de Beaurepaire de Aragao, Untersuchungen über die Variola. Münch. med. Wochenschrift Nr. 44, 1908.

Derselbe, Vaccine. Variola. Handb. der pathogenen Protozoen Bd. 1, 1912.

Prowazek, St. v. und Miyaji, S., Weitere Untersuchungen über das Vaccinevirus. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915.

Pfeiffer, L., Die Protozoen als Krankheitserreger. 1891. 2. Aufl. Jena.

Schilling-Torgau, V., Über die feinere Morphologie der Kurloffkörper des Meerschweinchens und ihre Ähnlichkeit mit Chlamydozoeneinschlüssen. I. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 58. 1911.

Derselbe, II. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 69. 1913.

Schlautmann, Zur Paulschen Pockendiagnose. Zeitschrift f. Medizinalbeamte 1918, Bd. 31, Nr. 7.

Süpfle, K., Beiträge zur Kenntnis der Vaccinekörperchen. Inaug.-Dissertation Heidelberg. Winter 1905.

Tiecke, Ein weiterer Beitrag zur Differentialdiagnose von Variola und Varizellen mit Hilfe der kutanen Allergie. Correspondenzblatt f. Schweizer Ärzte Nr. 1, 1918.

Wolf, W., Pocken (Sammelreferat). Med.-Bl. XXXIX. Jahrg. 1917, Nr. 12.

Wasielewski v., Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskrankheiten Bd. 38, 1901.

Tafelerklärung.

Tafel 1.

Fig. 1—11. Querschnitte durch die Randpartie mit Vaccine geimpfter Kaninchenhornhaut. Sublimat-Alkohol van Giesonsche Färbung.

Fig. 1. Entnahme 12 Stunden nach der Impfung; Beginn der Epithelwucherung; Epithelhügel.

Fig. 2—11. Entnahme 48 Stunden nach der Impfung.

Fig. 2. Gleichmäßige Verbreiterung des Epithels.

Fig. 3. Typischer langer Epithelzapfen.

Fig. 4. Breiter langer Epithelzapfen.

Fig. 5. Dasselbe stärker vergrößert. Zeigt die Verlagerung der Zellen, von denen viele stark hydropisch sind.

Fig. 6. Dasselbe stärker vergrößert; Übersicht zeigt, wie die meisten Zellen im Zapfen hydropisch und in Mantel- und Schachtelzellbildung begriffen sind.

Fig. 7—11. Einzelne Zellen stärker vergrößert.

Fig. 7. Beginn der Mantelzellbildung; die Zelle ist stark hydropisch und ödematös. Das Plasma ist größtenteils stärker färbbar, wohl geronnen, zentral um den Kern kontrahiert und ganz von der Peripherie zurückgezogen.

Fig. 8. Etwas andere Form der beginnenden Mantelzellbildung. Die stark hydropische Zelle zeigt peripher und am Kern ödematöse Lakunen. Das sehr stark gefärbte und verdichtete Plasma ist ringförmig um den Kern herum zusammengeballt.

Fig. 9. Die obere Zelle in Mantelzellbildung zeigt das stark gefärbte und verdichtete Plasma mehr peripher und hat sich ganz vom Kern zurückgezogen. Der Kern wird von einer ödematösen Lakune umgeben. Im Plasma liegt ein Guarnierisches Körperchen. Die untere Zelle befindet sich fast im gleichen Stadium der Ringzellbildung.

Fig. 10. Zweizellige Schachtelzelle. Zentral liegt eine ganz degenerierte schollenartige Mantelzelle, oben peripher der wie zur Teilung auseinandergezogene normale Zellkern.

Fig. 11. Dreizellige Schachtelzelle. In der Zelle unten liegt der noch normale Zellkern; rechts eine im Beginn der Mantelzellbildung begriffene Zelle, links eine bereits völlig degenerierte Ringzelle.

Fig. 12—21.	Von der Kaninchenhornhaut abgekratzte und ausgebreitete Epithelfetzen. Frischfärbung.
Fig. 12.	Kontrolle: Normales Auge geritzt. Entnahme nach 24 Stunden: Hydropische Zellen.
Fig. 13.	Vaccine: Entnahme 24 Stunden nach der Impfung; hydropische Zellen.
Fig. 14.	Vaccine: Entnahme 48 Stunden nach der Impfung. Hydropische Zellen, Beginn der Schachtelzellbildung.
Fig. 15.	Vaccine: Entnahme 48 Stunden nach der Impfung. Hydropische Zellen, Beginn der Schachtelzellbildung.
Fig. 16.	Vaccine: Entnahme 48 Stunden nach der Impfung; links oben Schachtelzelle, rechts unten hydropische Zelle.
Fig. 17.	Variola. Entnahme 48 Stunden nach der Impfung. Schachtelzelle.
Fig. 18.	Kontrolle. Schachtelzelle enthält Einschlußkörper (Pseudoguarnieri).
Fig. 19.	Kontrolle. Terpentin. Entnahme 92 Stunden nach der Impfung. Riesenkerne.
Fig. 20.	Kontrolle. Normales geritztes Auge. Entnahme nach 24 Stunden. Riesenzelle.
Fig. 21.	Kontrolle. Normales geritztes Auge nach 48 Stunden. Riesenzelle und hydropische Zellen.

Tafel 2.

Alle Figuren nach Präparaten von von der Hornhaut abgekratzten und frisch gefärbten Kaninchenhornhautfetzen.

Fig. 22—24.	Vaccine. Entnahme 48 Stunden nach der Impfung.
Fig. 22.	Typische Guarnierische Körperchen in den Epithelzellen, Übersicht.
Fig. 23.	Ein dem Epithelzellkern kappenförmig aufsitzendes Guarnierisches Körperchen.
Fig. 24.	Ein Haufen von Guarnierischen Körperchen.
Fig. 25—30.	Variola. Entahme 48 Stunden nach der Impfung.
Fig. 25.	Übersichtsbild. Viele Guarnierische Körperchen in den Epithelzellen. Methylenblau.
Fig. 26.	Guarnierische Körperchen z. T. mehrere in einer Zelle. Kresylechtblau.
Fig. 27.	Guarnierische Körper; der obere buchtet den Zellkern ein.
Fig. 28.	Zwei ungleich große Guarnierische Körper in derselben Zelle.
Fig. 30.	Stärker vergrößert. Ein großes und drei kleinere Guarnierische Körperchen.
Fig. 31—33.	Kontrolle.
Fig. 31.	Pseudoguarnieri mit Hof.
Fig. 32.	Normales geritztes Auge, Entnahme nach 24 Stunden. Granulierter Leukocyt mit pseudoguarnieriartigem Einschluß.
Fig. 33.	Normales geritztes Auge. Entnahme nach 96 Stunden. Viele Einschlußkörper (Pseudoguarnieri).

Tafel 3.

Fig. 1—8.	Schnittpräparat. Querschnitt durch die Randpartie eines 48stündigen Vaccineknötchens der Hornhaut. Sublimat-Alkohol, van Giesonsche Färbung.
Fig. 1.	Siebenkernige Riesenzelle, oben ödematöse Epithelzelle mit doppeltem Guarnierischem Körperchen.
Fig. 2.	Zelle im Beginn der Mantelzellbildung.
Fig. 3.	Schachtelzelle, zentral Mantellzelle mit Guarnierischem Körperchen.
Fig. 4.	Schachtelzelle, Mantelzelle bereits stark degeneriert.
Fig. 5.	Große Schachtelzelle. Auch die phagocytierende Zelle bereits in Koagulation begriffen.
Fig. 6.	Gruppe degenerierender Epithelzellen. a Ödematöse Zelle mit zerfallendem Kern. b dreizellige Schachtelzelle, oben der normale Kern der umfassenden Zelle, links phagocytierte Mantelzelle, rechts stark degenerierte Mantelzelle, c Schachtelzelle mit degenerierter Mantelzelle im Innern und zweilappiger Kern.
Fig. 7.	a) Schachtelzelle mit degenerierter Mantelzelle. b und c ganz degenerierte Mantelzelle.
Fig. 8.	Dreikernige Riesenzelle mit stark degenerierter Mantelzelle
Fig. 9—23.	Frisch gefärbte Präparate.

Fig. 9—17. Kontrollen. Zellen von geritzter mit Terpentin behandelter Kaninchenhornhaut. Methylenblau.

Fig. 9—16. Entnahme nach 24 Stunden.

Fig. 9. Dreikernige Riesenzelle.

Fig. 10. Achtkernige Riesenzelle.

Fig. 11. Siebenkernige Riesenzelle, enthält stark degenerierte Mantelzelle.

Fig. 12. Übersichtsbild. a hydropische Zelle. b Vierzellige Schachtelzelle; die große Zelle hat eine hydropische und eine ganze Schachtelzelle aufgenommen. c Einfache Schachtelzelle.

Fig. 13. a und b Schachtelzellen, welche homogenisierte, stark verkleinerte Mantelzellen enthalten. c Schachtelzelle mit hydropischer Zelle, die guarnieriartige Körperchen (Pseudoguarnieri), enthält. d Epithelzelle mit differentgefärbtem Einschluß. e Epithelzelle mit guarnieriartigem Körperchen (Pseudoguarnieri).

Fig. 14. Vierzellige Schachtelzelle, mittlere Zelle stark hydropisch, die Zellkerne der phagocytierenden Zellen durch den inneren Druck abgeplattet.

Fig. 15—16. Mantelzellen. Verschiedene Stadien der Mantelzellbildung.

Fig. 15. Das Plasma ist stark verdichtet und umgibt in konzentrischer Schichtung den stark degenerierten Zellkern.

Fig. 16. Stark degenerierte Mantelzelle. Kern nnd Plasma sind nicht mehr scharf voneinander abgesetzt.

Fig. 17. Metachromatische guarnieriartige Einschlüsse (Pseudoguarnieri) in Epithelzellen.

Fig. 18. Kontrolle. Normales Auge geritzt. Entnahme nach 24 Stunden. Vierzehnkernige Riesenzelle, mit aufgenommener hydropischer Zelle.

Fig. 19a—g. Kontrolle. Leukocyten aus gesundem Kaninchenperitoneum, welche guarnieriartige Einschlüsse (Pseudoguarnieri) enthalten.

a—b. Kresylechtblau.

c—g. Methylenblau.

Fig. 20a u. b. Kontrolle. Zellen aus der geritzten Kaninchenhornhaut, Methylenblau.

a. Guarnieriartiger Einschluß (Pseudoguarnieri) in einer Kernbucht.

b. Guarnieriartiger Einschluß (Chromidium) (in hydropischer) Zelle.

Fig. 21—23. Variola. Frischfärbung mit Kresylechtblau.

Fig. 21. Entnahme 72 Stunden nach der Impfung. Große Guarnierische Körperchen von Höfen umgeben; Teil eines Herdes, in welchem fast jede Zelle ein oder zwei Guarnierische Körperchen enthielt.

Fig. 22. Entnahme 48 Stunden nach der Impfung. Teil eines Herdes, in welchem fast jede Zelle ein oder zwei Guarnierische Körperchen enthält. Bei a Schachtelzelle mit degenerierter Mantelzelle.

Fig. 23. Entnahme 96 Stunden nach der Impfung. Verschiedene Formen von Guarnierischen Körperchen. Links unten kleines Körperchen neben großem, in der Mittelzelle Guarnieridruse, rechts großes Guarnierisches Körperchen mit differenziertem Bau und Granulationen in der Umgebung. Oben rechts großes metachromatisches Guarnierisches Körperchen. Die Mittelzelle ist mit metachromatisch gefärbten Kernzerfallsprodukten erfüllt.

Tafel 4.

Fig. 24—29. Vaccine. Frische Lymphe in einer Verdünnung 1:10000. Entnahme 72 Stunden nach der Impfung. Methylenblau.

Fig. 24. Teil eines Herdes, in dem fast in jeder Zelle ein oder zwei große von einem Hof umgebene Guarnierische Körperchen vorhanden sind.

Fig. 25. Entnahme 48 Stunden nach der Impfung. Methylenblau.

a Dreizellige Schachtelzelle; die mittlere, stark hydropische Zelle hat die Kerne der beiden anderen Epithelzellen sichelförmig an den Rand gedrängt.

b Dreizellige Schachtelzelle; mittlere Zelle im Beginn der Mantelzellbildung.

c Epithelzelle mit großem Guarnierischem Körperchen.

d Zweizellige Schachtelzelle. In der mittleren, stark hydropischen Zelle ein Guarnierisches Körperchen.

Fig. 26. Entnahme nach 48 Stunden. Kresylechtblau. Die untere Zelle enthält ein großes Guarniersches Körperchen mit zahlreichen körnigen Einlagerungen.

Fig. 27. Beimpft mit fünftem Vaccineaugenpassagestamm. Entnahme nach 48 Stunden. Kresylechtblau. Oben zwei Zellen mit Riesenguarnieri, die in dem Präparat reichlich vorhanden waren. Unten Zelle in Degeneration, erfüllt von metachromatischen Zerfallsprodukten des Kerns.

Fig. 28. Entnahme 48 Stunden nach der Impfung. Methylenblau. Teil eines Herdes, in welchem fast jede Zelle mehrere kleine Guarnierische Körperchen enthielt. In der Zelle rechts unten eine Guarnieridruse.

Fig. 29. Entnahme nach 72 Stunden. Methylenblau. Mittlere Zelle stark ödematös, erfüllt von scheinbar organisierten Körperchen, wahrscheinlich metachromatischen Trümmerstücken des Kerns. Links oben und rechts unten Zellen, in welchen chlamydozoenartige Gebilde dem Kern kappenförmig aufsitzen. Links unten eben solches Gebilde mit stark metachromatischen Körnchen.

Über Antagonismus zwischen Vaccine und Milzbrand.

Von

Stabsarzt **Dr. Th. Fürst,**

früher kommandiert zum Reichsgesundheitsamte.

Bei Gelegenheit von Untersuchungen, die kurze Zeit vor dem Kriege am Reichsgesundheitsamte von Lentz und Hesse über die Keimfreimachung von Vaccine ausgeführt worden sind[1]), wurden von mir Versuche in der Richtung angestellt, ob sich bei gleichzeitiger Infektion von Vaccine und sporenhaltigen Infektionserregern infektionsbefördernde oder hemmende Einflüsse bemerkbar machen würden.

Was zunächst die Frage anlangt, ob die zur Abtötung von asporogenen Keimen genügenden Mengen von Desinfektionsmitteln, wie sie dem Impfstoff ohne Abschwächung der spezifischen Vaccinewirkung zugesetzt werden können, eine schädigende Wirkung auf künstlich zugesetzte pathogene Sporenbildner ausüben, so lassen sich die Ergebnisse entsprechender Versuche für Tetanus und Anthrax dahin zusammenfassen, daß dabei weder durch das Carbolisationsverfahren noch durch mehrtägige Ätherbehandlung eine Abtötung der Sporen, ja nicht einmal eine wesentliche Virulenzabschwächung erreicht worden ist. Bei Verwendung von 1,5%iger Carbolsäure ließen Anthraxsporen, sei es, daß sie in 1,5%iger Carbolsäure-Kochsalzlösung oder in 1,5%iger Carbolsäurelapine bis zu drei Wochen bei 37° C bezw. Eisschranktemperatur gehalten wurden, nur eine geringe Virulenzabnahme der aus ihnen herausgezüchteten Wuchsformen (Prüfung der 24 Stunden-Agarkultur) in dem Sinne erkennen, daß Dosen von $^1/_8$—$^1/_{32}$ Öse, die beim Ausgangsstamm stets innerhalb 24 Stunden den Tod von Mäusen bei subcutaner Injektion zur Folge hatten, erst in 2—3mal 24 Stunden wirkten. Eine Abschwächung der Milzbrandsporen, wie sie nach älteren Arbeiten von Geppert[2]) und Behring[3]) bei Anwendung höher konzentrierter Lösungen der Mittel beobachtet wurde, findet jedenfalls bei den Konzentrationen, wie sie ohne gleichzeitige Schädigung des Vaccineerregers zur Keimfreimachung des Impfstoffes in Verwendung kommen können, nicht statt.

---

[1]) Berl. Kl. Wochenschrift 1914, Nr. 8. Diskussion in d. Sitzung d. mikrobiolog. Gesellschaft v. 15. Jan. 1914.

[2]) Berl. Kl. Wochenschrift 1890, S. 248 u. D. med. Wochenschr 1891, Nr. 25—27.

[3]) Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 9, S. 395.

Die weitere Frage war, ob bei gleichzeitiger Infektion mit Tetanus bezw. Anthrax und Lapine Wechselbeziehungen im Sinn eines Synergismus oder Antagonismus zwischen den gleichzeitig einverleibten Erregern beobachtet werden können. Hier konnte von vornherein als wahrscheinlich angenommen werden, daß solche Beziehungen zwischen Tetanus und Lapine bei der Verschiedenheit des zur Herbeiführung einer Infektion zu beobachtenden Impfmechanismus kaum zu erwarten wären. Auf cutanem Wege läßt sich, wie die Versuche auch an den für Tetanus hochempfänglichen Mäusen lehrten, eine Tetanusinfektion durch tetanushaltigen Impfstoff nicht erzeugen. Die cutane Impfung führt, wie gleichzeitig Kontrollversuche zeigten, auch über die Anwendung von Tetanusaufschwemmungen ohne Lapine, nicht zu einer Tetanusinfektion.

Bei der subcutanen Einverleibung von tetanussporenhaltiger Lapine läßt sich (s. Tab. 1) bei Mäusen eine tödliche Tetanusinfektion erzielen, ohne daß dabei weder eine Verstärkung noch eine Abschwächung der Giftwirkung der Tetanuskeime zu erkennen ist. Es wurde daher von weiteren derartigen Versuchen Abstand genommen.

Tabelle I.

Versuche über die Wirksamkeit von Hautimpfungen mit Milzbrand und Tetanussporen.

Tierart	Art der Impfung	Material	Tag der Impf.	Tag des Todes	Bemerkungen	Sektion
		Tetanus I (Labor. Stamm).				
Kaninchen	Mehrere seichte Hautschnitte, Einreiben mit Pistill	Bodensatz einer dreiwöchiger Bouillonkultur	23. 6.	—		Tiere bleiben am Leben
desgl.	desgl.	desgl.	23. 6.	—		
desgl.	desgl.	Bodensatz einer dreiwöchiger Bouillonkultur mit steril. Quarzsand zu einem Brei angerührt	23. 6.	—	Nach Einreiben in die Haut Überdeckung d. Impfstelle mit Guttapercha u. Kollodium	
		Kontrollen.				
Maus	Subcutan 1 mit dreiwöchigem Bouillon-Kulturbodensatz getränktes Holzstückchen	—	19. 5.	21. 5.	Beginn mit Lähmung 20. 5. Streckkrämpfe Nacken und Hinterbeine	Aus Eiter Tetanusbacillen gezüchtet
Kaninchen	Subcutan 3 Holzstückchen mit dreiwöchigem Bouillon-Kulturbodensatz getränkt	—	23. 6.	1. 7.	Beginn m. Parese d. linken Rückenmuskeln und linken Hinterbeins, keine Krämpfe, starke Abmagerung	Eiter in der Umgebung der Holzstückchen. Im Ausstrich keine Tet. bac. nachweisbar, starke Anämie aller Organe. Aerobe Kulturen aus Blut und Eiter steril

Tetanus II (aus Pferdemist gezüchtet).

Tierart	Art der Impfung	Material	Tag der Impf.	Tag des Todes	Sektion
10 Mäuse, bei 7 bleibt Haut unbedeckt, bei 3 wird die Haut nach Einreiben des Materials mit Pistill mit Kollodium u. Watte verschlossen	4 seichte Hautschnitte Einreiben mit Pistill	Bodensatz von zwei 2 wöch. Tetanus bouillon - Reinkulturen. Reinkulturen verrieben mit steril. Glassand	—		Tiere bleiben am Leben
Kontrollen: Subcutane Impfung mit gleichem Stamm.					
Maus Kopf rot	Subcutan	Holzstückchen mit 16 tägiger Bouillonkultur getränkt	20. 7.	23. 7.	Deutliche Krämpfe am zweiten Tag
Maus Rücken rot	desgl.	desgl.	20. 7.	23. 24. 7.	desgl.

Versuch mit Tetanuslapine-Hautimpfung.

Lapinepreßsaft (Nr. IV) 1,0 mit 1,0 abzentrifugiertem und 3mal gewaschenem Bodensatz von 14 tägiger Tetanus-Bouillon-Reinkultur versetzt.

Tierart	Art der Impfung	Material	Tag der Impf.	Tag des Todes	Sektion
4 Mäuse	4 seichte Hautschnitte, Einreiben mit Pistill	1—2 Tr. der obigen Mischung	5. 7.	—	Tiere bleiben am Leben
Kan. 2380	desgl.	0,5 Tr. der obigen Mischung	5. 7.	—	desgl.
Kontrollmaus	Subcutan	desgl.	5. 7.	8. 7.	7. 7. ausgesprochene Lähmung der hint. Extremitäten. Zuckkrämpfe. 8. 7. †

Versuch mit Anthraxhautimpfung.

Tierart	Art der Impfung	Material	Tag der Impf.	Tag des Todes	Bemerkungen	Sektion
Maus 1	4 seichte Hautschnitte, Einreiben mit Pistill	3 tg. Agarplatte in 6 ccm Na Cl-Lösung aufgeschwemmt. Verwendete Dosis: ca. 0,1	18.5.	19.5.	Leichte Hautblutung bei der Impfung	Anthraxbacillen im Blut
Maus 2	desgl.	desgl.	18.5.	19.5.	desgl.	desgl.
Maus 3	desgl.	ca. 0,5	18.5.	20.5.	Keine Hautblutung	desgl.
Meerschwein	desgl.	ca. 0,5	18.5.	20.5.	desgl.	desgl.
Kaninchen	desgl.	ca. 0,5	18.5.	20.5.	desgl.	desgl.

Höchst auffällige Resultate lieferten dagegen schon die ersten Versuche über die gleichzeitige Infektion mit Anthrax und Lapine. Es wurde dabei in folgender Weise vorgegangen: Frisch bereiteter, gut wirksamer Lapinerohimpfstoff wurde in der Reibschale mit wenig Kochsalzlösung verrieben und dann nach 24 Stunden in der Kugelmühle mit der doppelten Gewichtsmenge NaCl-Lösung fein vermahlen. Das so erhaltene Material wurde in drei Teile geteilt und zu jedem die gleiche Menge einer Anthraxsporenemulsion zugemischt. (Aufschwemmung von fünf Tage alten auf das Vorhandensein von Sporen geprüften Milzbrand-Agarplatten) in 20 ccm Wasser, hiervon 2 ccm zu je 2 ccm der Lapineemulsion. Ein Teil dieser anthraxhaltigen Lymphe wurde sodann mit $^1/_2$ Teil 3%iger Carbolsäure, der zweite Teil mit $^1/_2$ Teil konzentriertem Glyzerin versetzt, so daß der Carbolgehalt der ersten Lymphe = 1%, der Glyzeringehalt der zweiten Lymphe = $33^1/_3$% betrug, während die letzte Probe mit Äther überschichtet wurde. Die drei Anthraxlapineproben wurden bei Eisschranktemperatur aufbewahrt und von Zeit zu Zeit untersucht. Die Prüfung erstreckte sich einerseits auf ihren Gehalt an Begleitbakterien durch Aussaat auf Agarplatten. Dabei stellte sich heraus, daß die Carbol- sowie die unter Äther gehaltene Lapine sehr bald frei von Begleitbakterien waren und nur mehr Anthraxsporen enthielten, während in der Glycerinlymphe die Begleitbakterien bald derartig überwogen, daß bei der Plattenprüfung die Anthraxbazillen überwuchert wurden. Andererseits wurden die Proben periodisch auf ihren Gehalt an Lapineerregern durch die cutane bezw. corneale Impfung an Kaninchen geprüft. Dabei erwies sich die Ätherlapine bald als avirulent, während die anderen Proben ihre spezifische Wirkung noch nach Wochen erkennen ließen. (Nachweis von Pustelbildung auf der Haut, Prüfung auf Guarnierische Körperchen mit vitaler Färbemethode nach Gins und durch Färbung im Schnitt.)

Ferner wurde auch durch subcutane Verimpfung (bei Mäusen eine Platinöse, bei Meerschweinchen und Kaninchen ein gehäufter Platinspatel[1]) die Wirkung einer gleichzeitigen Anthrax-Lapineinfektion beobachtet (s. Tab. II).

Dabei zeigte sich die auffällige Tatsache, daß die mit anthraxhaltiger avirulenter (Äther-) Lapine cutan oder subcutan geimpften Tiere bis auf eine Ausnahme, bei welcher nach cutaner Impfung überhaupt keine Infektion erfolgt zu sein scheint, sämtlich an typischem Milzbrand zugrunde gingen, während die mit virulenter (Carbol- und Glycerin-) Lymphe und Anthraxbacillen geimpften Kaninchen und Mäuse fast stets am Leben blieben. Bei zwei Kaninchen (s. Spalte 2 der Tab. II), bei denen doch Milzbrandtod eintrat, erfolgte derselbe aber um mehrere Tage später als bei den mit avirulenter Anthraxlapine geimpften Kontrollen. Es war also unverkennbar schon bei diesen ersten Versuchen eine Schutzwirkung gegen die Anthraxinfektion durch virulente Lapine zu konstatieren, wenigstens bei Kaninchen und Mäusen, nicht dagegen bei Meerschweinchen, welch letztere sich gegen die Impfung auch mit reiner Lapine ziemlich refraktär verhalten.

---

[1]) Zum Verspritzen war das Rohmaterial nicht geeignet, es wurde daher später Lapinepreßsaft verwendet, bezw. wie in Versuch auf Tab. III Impfstoff, der durch Gaze koliert war.

Tabelle II.

Impfungen mit anthraxsporenhaltiger Lapine (Rohstoff).

Anthrax-Lapine vom 25. 5.

Lapine zu gleichen Teilen mit Anthraxemulsion von 2 Agarplatten (5 Tage alt) in 20 ccm Kochsalzaufschwemmung mit konz. Glyzerin bezw. 3 % Carbolsäure versetzt, bezw. mit Äther überschichtet.

Carbollapine		Glyzerinlapine		Ätherlapine	
Kultur	Tierversuch	Kultur	Tierversuch	Kultur	Tierversuch
27. 5. **fast nur Milzbrandbac., wenig Begleitbakterien in 1 Öse = ca. 10 000** Ab.	20. 6. Kan. 2689 0,2 cutan, † 27. 6. typischer Anthraxbefund.	27. 5. Anthraxbacillen u. Begleitbakterien ca. in gleichem Verhältnis		27. 5. **fast nur Anthrax, nur wenig Begleitbacterien**	
2. 6. **fast nur Milzbrandbacillen in 1 Öse = ca. 10000 Keime**	2. 6. **Maus** subcutan 1 Öse, **bleibt am Leben.** — 15. 6.	2. 6. Mehr Begleitbakterien als Anthraxbacillen	2. 6. Maus subcutan 1 Öse, **bleibt am Leben**	2. 6. **fast nur Anthraxbacillen** 10. 6. Anthraxbacillen in **Reinkultur**	2. 6. Maus 1 Öse subcutan, † nach 5 Tagen, typ. Anthraxbefund
5. 6. **Anthraxbacillen Reinkultur**	5. 6. Kaninchen 0,2 cutan und corneal typischer Vaccineerfolg, **lebt noch nach vier Wochen**	10. 6. Weit mehr Begleitbakterien als Anthraxbacillen 13. 6. Anthraxbacillen nur mehr 2—3 %	5. 6. Kaninchen cutan und corneal ca. 0,2 typ. Impfeffekt. **Lebt noch nach 4 Wochen**	13. 6. **desgl.**	5. 6. **Kaninchen** cutan, 4 Hautschnitte, ebenso corneal, kein Impferfolg. **Tier lebt noch nach 4 Wochen.** Corneal keine G.K.
10. 6. **Reinkultur von Anthraxbacillen in 1 Öse = ca. 10000 Keime**	5. 6. Kaninchen ca. 0,2 subcutan, Absceß, **lebt noch nach 4 Wochen**	Virulenzbestimmung der am 13. 6. aus Glycerinlapine herausgezüchteten Anthraxbacillen. $^1/_4$—$^1/_{32}$ Öse, Maus † nach 1 Tag wie bei Originalstamm	5. 6. Kaninchen subcutan ca. 0,2 **Absceß, lebt noch nach 4 Wochen** 12. 6. Meerschwein subcutan ca. 0,2 † nach 6 Tagen, typ. Milzbrandbefund, gleichzeitige Impfung in die Haut: Keine Pusteln	12. 6. Virulenzbestimmung der am 11. 6. herausgezüchteten Anthraxbacillen $^1/_4$—$^1/_{32}$ Öse Maus † nach 1 Tag wie bei Originalstamm 20. 6. $^1/_{100}$ Öse = ca. 100 Keime	5. 6. Kan. subcutan ca. 0,2 † nach 3 Tagen typ. Anthraxbefund 12. 6. Meerschweinchen subc. ca. 0,2 † nach 3 Tagen, typ. Anthraxtod 20. 6. Kaninch. 1453 cutan (4 Schnitte) und corneal mit 0,2 Ätherlapine geimpft, Einreiben mit Pistill 23. 6. Keine Pustelbildung. G. K. = 0. † Nachts zwischen 23.—24. 6. Sektion: Sämtliche Organe Anthraxbacillen Maus 2 Ösen subcutan, † 21./22. 6. Nachts. Maus 1 Öse subcutan, † 21./22. 6. Nachts. Bei beiden Mäusen bei Sektion Ausstr. und kulturell: Anthraxbacillen
12. 6. **Virulenzbestimmung der am 11. 6. herausgezüchteten Anthraxbacillen** Öse — Tod nach Tagen — Originalstamm $^1/_4$ — 1 — $^1/_4$—$^1/_{32}$ Öse $^1/_8$ — 2 — Tod nach $^1/_{16}$ — 2 — 1 Tag $^1/_{32}$ — 2 20. 6. $^1/_{100}$ Öse = 100 Keime	12. 6. Meerschweinchen subc. ca. 0,2, † 16. 6., typischer Milzbrand, gleichzeitige Hautimpf., keine Pusteln 20. 6. Kaninch. 2689 cutan (4 Schnitte) corneal mit ca. 0,2 Anthraxlapine geimpft, Einreiben mit Pistill. 23. 6. Rötung u. beginnende Pustelbildung. G. K. + 25. 6. Deutl. Pusteln 26. 6. Im Reizserum vereinzelte, aber deutl. gekapselte Anthraxbacillen nachweisbar 27. 6. †. Sektion Anthraxbacillen in sämtl. Organen. + 20. 6. Maus 2 Ö. subcutan † 22. 6. vorm. Blut Anthraxbac. 20. 6. Maus 1 Ö. subcutan, bl. am Leb. 24. 6. Kaninch. 2014 subc. 0,2[1]), Kaninchen 2563 subc. 0,2[1]), bleiben am Leben	Da in Glyzerin-Lapine infolge Überwucherung der Begleitbakterien sich der noch vorhandene Gehalt an Anthraxbacillen quantitativ nicht feststellen läßt, so wird mit diesem Lapine-Anthraxgemisch nicht mehr gearbeitet. Der Gehalt der Carbol- und Ätherlapine an Anthraxbacillen ist annähernd gleich geblieben.			

[1]) Bei beiden Tieren kirschkerngroßer Absceß, in dem nie Anthraxbacillen nachweisbar waren.

Tabelle III.

Impfungen von Lapineimpfstoff und abgestuften Mengen von Anthraxbacillen.

Zur Verwendung gelangte Carbollapine vom 25. 5., die sich als bakterienfrei und durch mehrfache Prüfung an Kaninchen als stark virulent erwiesen hatte. Vor dem Versuch wurde die Lapine, um anstandslose Injektion zu ermöglichen, durch sterile Gaze koliert und dann nochmals durch Gaze filtriert. Als Anthraxstamm diente der gleiche wie im Versuch von Tab. II, welcher in Dosen bis zu $^1/_{100}$ bei subcutaner Injektion stets Kaninchen-Tod in 2 Tagen, bei Dosen von $^1/_{200}$ und weniger meistens nach mehreren Tagen bewirkt hatte.

Subcutane Injektion von Lapine 0,5 + 0,5 NaCl mit Anthraxbacillen

$^1/_{20}$ Öse	$^1/_{40}$ Öse	$^1/_{80}$ Öse	$^1/_{200}$ Öse
Kaninchen Nr. 2545 16. 7. Rötung an der Impfstelle 17. 7. Diffus sich verbreitende Rötung und Schwellung der Unterhaut 18. 7. † Sektion: Sulziges Ödem an der Impfstelle Anthraxbacillen massenhaft in der Ödemflüssigkeit und der Milz	**Kaninchen Nr. 1981** 16. 7. Rötung an der Impfstelle 17. 7. Rötung u. erbsengroße Schwellung 18. 7. Schwellung zugenommen, kirschkerngroße Tumoren Durch Capillaren gewonnener Reizsaft läßt keine Anthraxbacillen in Ausstrich erkennen, Verimpfen auf Mäuse ohne Erfolg 20. 7. Tumorartige Schwellung noch vorhanden, Rötung aber deutlich zurückgegangen. **Tier bleibt am Leben**	**Kaninchen Nr. 1960** 16. 7. Leichte Rötung an der Impfstelle 17. 7. Rötung stärker 18. 7. Ein oberflächlich geröteter ca. kirschkerngroßer Tumor 20. 7. Tumor nicht mehr gerötet. 21. 7. Erweichung des Tumors, bei der Entnahme dicker Eiter, der aber keine Anthraxbacillen im Ausstrich und Kultur enthält. **Tier bleibt am Leben**	**Kaninchen Nr. 2100** 16. 7. — 17. 7. Leichte diffuse Rötung. 18. 7. Rötung noch vorhanden 19. 7. Rötung geringer 20. 7. Keine deutliche Schwellung und Rötung **Tier bleibt am Leben**

Kontrollen.

Subcutane Injektion von 1% Carbolsäure 0,5 + 0,5 NaCl mit Anthraxbacillen

$^1/_{20}$ Öse	$^1/_{40}$ Öse	$^1/_{80}$ Öse	$^1/_{100}$ Öse
Kaninchen Nr. 2668 † 17. 7. Sektion: Starkes Ödem der Haut von der Injektionsstelle ausgehend. Milz vergrößert. In sämtlichen Organen Anthraxbacillen	**Kaninchen Nr. 2176** † 16. 7. nachm. Sektion: Mäßig starkes Ödem, in der Ödemflüssigkeit und deren Organen Anthraxbacillen durch Ausstrich und Kultur nachweisbar.	**Kaninchen Nr. 2459** † 17. 7. Sektion: Starkes sulziges Ödem an der Impfstelle, Milz vergrößert. Anthraxbacillen nachweisbar durch Ausstrich und Kultur.	**Kaninchen Nr. 2576** † 17. 7. Sektion: Starkes Ödem an Impfstelle. Anthraxbacillen nachweisbar in den Organen durch Ausstrich und Kultur.

Diese Tatsache, daß bei Tieren mit geringer Empfänglichkeit für Lapine die Schutzwirkung gegen das Haften der Anthraxbacillen fehlt, spricht ebenso wie die Tatsache, daß avirulente Lymphe keinen Schutz gewährt, dafür, daß es sich tatsächlich um einen Antagonismus zwischen den Pockenerregern und den Anthraxbacillen handelt. Das gleiche Resultat wie die ersten Versuche lieferte der auf. Tab. III beschriebene Versuch mit abgestuften Mengen von Anthraxbacillen (s. Tab. III). Hier konnte zugleich gezeigt werden, daß die Virulenzherabsetzung der Anthraxbacillen nicht etwa auf der Wirkung des der Lymphe zugesetzten Desinfektionsmittels beruhte. Man hätte ferner auch an die Möglichkeit denken können, daß es sich nicht um einen direkten Antagonismus zwischen den zwei verschiedenen Infektionserregern handele, sondern um die Wirkung von Gewebsextrakt. Daß aber normaler Hautextrakt keine Schutzwirkung ausübt, im Gegensatz zu Lapineextrakt, zeigt Tab. IV.

Bei diesem Versuch wurde mit Preßsäften von Lapinerohstoff einerseits und normaler Kaninchenhaut andrerseits, die auf gleiche Weise gewonnen waren, gearbeitet. Was die Verwendung von Lapinepreßsäften (nach der Methode von Buchner und Hahn) anlangt, so haben sie den Vorteil einer gleichmäßig feinen Verteilung, die eine raschere Keimfreimachung ermöglicht und sie zur Injektion besser geeignet macht. Allerdings erfolgt durch die Verwendung von Quarzsand und das Durchpressen durch das Koliertuch eine deutliche Virulenzabnahme. Immerhin läßt sich auch bei diesem Preßsaftversuch ersehen, daß der Lapinepreßsaft eine deutliche Verzögerung der Milzbrandinfektion (um 4 Tage) zur Folge hatte, während die gleiche mit Normalhautpreßsaft gespritzte Dosis von Anthraxbacillen, ebenso, wie bei dem Kontrolltier den Tod innerhalb 3 Tagen bewirkte. Auch der mikroskopische Befund, der bei den drei Kaninchen erhoben wurde, vgl. Tab. IV, spricht deutlich für einen Antagonismus des Lapinevirus gegenüber den Milzbrandbacillen.

Die gleiche Schutzwirkung gegenüber der Anthraxinfektion ließ sich auch bei Verwendung von wässerigen Lapinemaceraten feststellen, die in der Weise gewonnen wurden, daß 1 Teil stark virulenter Rohimpfstoffe mit 50—100 Teilen NaCl-Lösung mehrere Tage bei Zimmertemperatur in der Kugelmühle maceriert, dann durch Kolieren von groben Bestandteilen befreit und auf 1—1,5 % Carbolgehalt gebracht wurde. Das kolierte Macerat wurde dann zentrifugiert und durch Stehenlassen in Meßzylindern noch der spontanen Sedimentierung unter Aufbewahrung im Eisschrank unterworfen. Die sorgfältig abgehobenen oberen Flüssigkeitsschichten waren schon nach wenigen Tagen völlig bakterienfrei, gleichzeitig aber bei der cutanen und cornealen Prüfung am Kaninchen noch virulent. Die Schutzwirkung derartiger wässeriger Macerate erhellt aus Tab. V.

Aus allen bisher geschilderten Versuchen geht also ein, wenn auch nicht absoluter so doch deutlich nachweisbarer Antagonismus zwischen Vaccineerregern und Milzbrandbacillen hervor, der sich dem schon in der älteren Literatur bekannten bakteriellen Antagonismus (Gennerich, Pawlowsky, Watson-Cheyne) des Pyocyanus gegenüber der Milzbrandwirkung zur Seite stellen läßt. Die günstigen Resultate der Versuche legten naturgemäß den Gedanken nahe, zu untersuchen, ob die durch die Anthraxlapineinjektion vor der Anthraxinfektion geschützt gebliebenen Tiere sich bei

Tabelle IV.

Impfungen mit anthraxsporenhaltiger Lapine (Preßsaft).

Preßsaft Nr. IV. 1/2 % Carbolgehalt.

Bereitung am 16. 6. 12 g Rohmaterial + 20 g phys. NaCl-Lösung + 20 g Quarzsand | verrieben, dann bei Druck von 250—500 Atm. gepreßt.

10 ccm Preßsaft mit gleichen Teilen 1 %iger Carbollösung versetzt und im Eisschrank aufbewahrt.

Sterilität: nach 2 Tagen (aerob und anaerob) erreicht.
Virulenzprüfung: unverdünnt gut wirksam auf Kaninchencornea.
Grenze der Virulenz: (Kan. Cornea!) 1 : 200 am 20. 6.

Kontrolle: Preßsaft von normaler Haut 1/2 % Carbolgehalt.
Bereitung aus 3 g Rohmaterial normaler mit scharfem Löffel abgekratzter Kaninchenhaut in gleicher Weise wie Preßsaft Nr. IV

3 g Rohmaterial + 5 g Quarzsand + 5 ccm NaCl-Lösung } zerrieben, dann zwischen 250—500 Atm. gepreßt und mit gleichen Teilen 1 %iger Carbollösung versetzt

3 ccm 1/2 %iger Carbollapinepreßsaft + 3 ccm Anthrax-Aufschwemmung (= 1 1/2 Öse) 0,5 der Mischung also = 1/8 Öse Anthraxbacillen	3 ccm 1/2 %iger Carbol-Haut-preßsaft + 3 ccm Anthraxaufschwemmung (= 1 1/2 Öse) 0,5 der Mischung also = 1/8 Öse	Kontrolle. 3 ccm Anthraxaufschwemmung = 1 1/2 Öse + 3 ccm NaCl Lösung 0,5 der Mischung also = 1/8 Öse
24. 6. Kan. 0,5 ccm subcutan (l. Bauchseite) 26. 6. Bildung einer kirschkerngroßen, leicht rötlichen Vorwölbung 26. 6. desgl. 28. 6. Keine wesentliche Zunahme der Vorwölbung, keine stärkere Rötung Punktion ergibt: sanguinolentes Exsudat, in welchem wenig Leukocyten und vereinzelte mit Kapseln versehene Anthraxbacillen nachgewiesen werden 29. 6. Rötung zugenommen 30. 6. Rötung wie gestern, Schwellung eher etwas geringer 1. 7. Tod. Sektion: Kein ausgesprochenes Ödem an der Impfstelle wie bei Kontrollkaninchen. Kulturell aus Blut Anthraxbacillen. Histologische Untersuchung der Haut von der Impfstelle. Direkt unter den Papillen, deren Zellen namentlich in der Umgebung der Haarbälge zweifellose Guarnierische Körperchen erkennen lassen, nur ganz vereinzelte Anthraxbac. Erst tiefer in der Subcutis vereinzelte kleinere Anhäufungen von Gram + Stäbchen.	24. 6. Kan. 0,5 ccm subcutan (l. Bauchseite) 25. 6. Deutliche Rötung der Haut in Markstückgröße 26. 6. Rötung in Zunahme, deutliche Schwellung an der Unterbauchgegend 27. 6. Punktat: zahlr. Lympho- und Leukocyten, zahlreiche Anthraxbacillen mit Kapseln 27. 7. Nachts Tod Sektion: Starkes Ödem an Impfstelle, welches sich über das ganze Unterhautzellgewebe des Bauches und der Brust ausdehnt Kulturell und im Ausstrich aus Milz Anthrax. Histologische Untersuchung der Haut von der Impfstelle. Die ganze Subcutis bis dicht unter die Epidermis mit massenhaften Anthraxbacillen, die stellenweise ganze Nester bilden, durchzogen.	24. 6. 0,5 ccm subcutan (l. Bauchseite) 25. 6. Ausgesprochene Rötung 26. 6. Handtellergroße Rötung und Spannung der Haut. Schwellung der Bauchhaut 27. 6. Schwellung und Rötung hat stark zugenommen 27. 6. Nachts Tod Sektion: wie bei Normalhautpreßsaft, ausgedehntes Ödem der seitlichen Bauchhaut. Histologische Untersuchung der Haut von der Impfstelle. Ebenfalls reichlich Anthraxbacillen in der Subcutis bis dicht an die Epidermis.

Tabelle V.

Lapineaufschwemmung 157/2 und 157/1.

7. 6. Kaninchenversuch mit subcutanen Injektionen. Lapineaufschwemmung 157/2.

0,5 NaCl enthält $^1/_4$ Öse 24stünd. Anthraxbac. + 0,5 Lapine-aufschwemmung 157/2	0,5 NaCl enthält $^1/_{32}$ Öse 24stünd. Aufschwemmung + 0,5 Lapine-aufschwemmung 157/2	Kontrollen	
		0,5 NaCl-Lösung mit $^1/_4$ Öse Anthraxbacillen	0,5 NaCl-Lösung mit $^1/_{32}$ Öse Anthraxbacillen
30. 6. Geringe Rötung aber im Reizserum vereinzelte gekapselte Bacillen nachgewiesen. 2. 7. † Sektion: Kein Ödem, auf der Haut keine Pusteln. Schnitt. Milzbrandbacillen nicht in großen Mengen im Unterhautzellgewebe	30. 6. Pustelentwicklung und leichte Rötung in der Umgebung 1. 7. Rötung etwas abblassend, Pusteln deutl., Tier bleibt am Leben Am 21. 7. mit $^1/_{100}$ Öse 24stünd. Anthraxkultur nachgespritzt, Tier bleibt am Leben (Kontrollen normale). Kaninchen mit $^1/_{100}$ und $^1/_{200}$ Öse subcutan in 2—4 Tagen †	28. 6. Schwellung und Rötung 29. 6. Zunahme 30. 6. † Sektion: Außerordentlich starkes Ödem des Unterhautzellgewebes. Schnitt. Unterhautzellgewebe bis zur Epidermisdecke mit massenhaft Anthraxbacillen durchsetzt (Nester)	28. 6. Rötung 29. 6. Schwellung und Rötung 30. 6. Schwellung +++ 1. 7. † Sektion: Sehr starkes Ödem der Bauchhaut. Schnitt. Unterhautzellgewebe bis zur Epidermis mit Anthraxbacillen durchsetzt

21. 7. Fortsetzung der Versuche mit Lapinemaceraten.
Verwendung von Lapineaufschwemmung Nr. 157/1.

0,5 Lapineaufschwemmung mit $^1/_{40}$ Öse	157/1 + 0,5 NaCl $^1/_{40}$ Öse Milzbrand (24stünd. Kultur	Kontrollen	
		0,5 1 % Carbol NaCl-Lösung mit $^1/_{100}$ Öse	+ 0,5 NaCl mit Milzbr. $^1/_{200}$ Öse (24std. Kultur)
Kaninchen 1834 (Injektion sehr tief ins Unterhautzellgewebe gegangen) 23. 7. 0 24. 7. Leichte Schwellung 25. 7. Schwellung etwas in Zunahme. 26. 7. Keine Verstärkung 27. 7. „ „ 29. 7. Kein Absceß, Schwellung kaum mehr vorhanden Tier bleibt am Leben	Kaninchen 2282 22. 7. Leichte Rötung an Impfstelle 24. 7. Deutliche Rötung 25. 7. Rötung stärker 26. 7. Rötung in der Umgebung des Injektionsstiches, einige wenige Pusteln. 29. 7. Tier gesund, bleibt am Leben.	Kaninchen 2487 22. 7. Leichte Rötung 23. 7. Schwellung und Rötung 24. 7. † Sektion: Organausstrich. Anthraxbacillen +	Kaninchen 1293 22 7. Keine lokalen Erscheinungen 23. 7. Früh anscheinend gesund. Mittags †. Sektion: Organausstrich. Anthraxbacillen +

einer späteren Reinfektion mit Anthrax allein als immun erweisen würden. In der Tat vertrugen von fünf Kaninchen, welche 4—7 Wochen vorher mit Anthraxlapine behandelt worden waren, vier die Reinjektion von einer bei unbehandelten Tieren unter allen Umständen tödlich wirkenden Milzbranddosis ($^1/_{80}$—$^1/_{160}$ Öse), selbst ohne

erhebliche lokale Reizerscheinungen außer leichter Rötung und Schwellung, die aber kaum zur Eiterbildung führte. Nur ein einziges, vor 7 Wochen zum erstenmal mit Anthraxlapine behandeltes Kaninchen ging nach der Wiederimpfung an Anthrax zugrunde, aber auch erst später als die zur Kontrolle geimpften normalen Tiere, bei welchen die angewandten Dosen bei der subcutanen Injektion regelmäßig schon nach 2 Tagen den Tod zur Folge hatten (s. Tab. VI).

Tabelle VI.

Anthrax-Reinjektion von mit Anthraxlapine vorbehandelten Kaninchen.

Kan. Nr.	Anthraxlapine-injektion	Reinjektion von 24stündiger Agarkultur subcutan	Resultat
2563	22. 6. Carbolanthraxlapine	$^1/_{80}$ Öse 22. 7.	Außer vorübergehender leichter Schwellung keine lokalen Erscheinungen. **Tier bleibt am Leben.**
2014	22. 6. Desgl.	$^1/_{80}$ Öse 22. 7.	Desgl.
1974	27. 6. Carbollapine-mac. 15712 0,5 + $^1/_{21}$ Öse	$^1/_{80}$ Öse 22. 7.	Knorpelharte Infiltration, die allmählich (ab 26. 7.) zurückgeht. **Tier bleibt am Leben.**
1690	5. 6. Lecithin-anthraxlapine[1])	$^1/_{160}$ Öse 22. 7.	Leichte Schwellung, die zu einer leichten Absceßbildung führt, in dem wenigen Eiter keine Anthraxbacillen. **Tier bleibt am Leben.**
149	5. 6. Glycerin-anthraxlapine	$^1/_{160}$ Öse 22. 7.	Am 25. 7. leichter Absceß, in dem Absceßeiter vereinzelte gekapselte Anthraxbacillen nachzuweisen. 26. 7. †. Aus Organen kulturell Anthraxbacillen.
		Kontrollen.	
2487	Unbehandeltes Tier	$^1/_{160}$ Öse 22. 7.	Tod nach 2 Tagen.
1293	Desgl.	$^1/_{320}$ Öse 22. 7.	Desgl.

Wenn sich diese bei Kaninchen festgestellte antagonistische Wirkung der Lapine gegenüber der Anthraxinfektion auch bei Versuchen an größeren Tieren (Rindern) bestätigen würde, so wäre dies vielleicht in praktischer Hinsicht insofern von Bedeutung, als dieser Antagonismus unter Umständen bei der aktiven Milzbrandimmunisierung nutzbar gemacht werden könnte, um dadurch die bei den aktiven Milzbrandimmunisierungsverfahren sonst nicht zu vermeidenden Impfverluste zu verringern.

[1]) Dieses Tier war aus analogen Versuchen übrig geblieben, bei denen versucht worden war, die Lymphe durch Zusatz von 1,25–5% Lecithin bakterienfrei zu machen. Das Lecithin hatte sich hierzu nicht als brauchbar erwiesen, da es mit den in der Lymphe enthaltenen Bakterien auch den Vaccineerreger in 8—14 Tagen abtötet.

Vergleichende Untersuchungen mit dem Uhlenhuth-Xylanderschen Antiforminverfahren und den von Ditthorn-Schultz sowie von Schmitz-Brauer angegebenen Anreicherungsmethoden zum Nachweis von Tuberkelbacillen im Sputum.

Von

Dr. med. Karl W. Jötten,
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Von allen Anreicherungsverfahren, die den Nachweis der Tuberkelbacillen im Sputum zu erleichtern versuchten, hat sich das von Uhlenhuth und Xylander[1]) ausgearbeitete Antiforminverfahren bisher am meisten bewährt. Anderen früher angegebenen Methoden gegenüber hat es nicht allein den Vorteil einer besseren Verflüssigung selbst zähschleimigen Auswurfes, sondern auch noch die Eigenschaft, sämtliche Bakterien mit Ausnahme der säurefesten aufzulösen. Gegenüber diesen Vorzügen wird von manchen Untersuchern ein Nachteil des Verfahrens darin gesehen, daß das erhaltene Sediment nicht so leicht auf dem Objektträger haftet, schwer Farbstoffe annimmt und nicht immer ein klares mikroskopisches Bild liefert.

Auch von Ditthorn und Schultz[2]) ist neuerdings hierauf wieder aufmerksam gemacht und ein neues Verfahren angegeben worden, das diese Mängel nicht aufweisen und bezüglich der Ausbeute der Tuberkelbacillen dem Antiforminverfahren noch überlegen sein soll. Die Sputumuntersuchung geht dabei folgendermaßen vor sich:

„Das Sputum wird in einem Meßzylinder mit der gleichen Menge sterilen Wassers verdünnt, zur Homogenisierung mit 10% einer 15%igen Kalilauge versetzt und 10—20 Minuten in einem Wasserbad von 47°—50° C gehalten. Nach erfolgter Homogenisierung wird mit 1,5—2,0 ccm einer 20%igen Eisenchloridlösung ein Niederschlag erzeugt, der sich bald absetzt und durch Abfiltrieren oder Abschleudern sich von der überstehenden Flüssigkeit leicht trennen läßt. Das Sediment wird auf zwei Objektträgern durch Aufeinanderdrücken und Abziehen verteilt. Nach dem Antrocknen wird das Präparat in der Flamme fixiert, mit Karbolfuchsin gefärbt und mit Alkohol-Salzsäure entfärbt. Auf eine Nachfärbung wird verzichtet werden, da durch die Kalilauge alle Bakterien mit Ausnahme der säurefesten aufgelöst werden sollen.

Das Niederschlagsbild besteht aus gelbbraunen Eisenschollen, von denen sich die einzelnen und in Nestern verklumpten, rot gefärbten Tuberkelbacillen deutlich abheben."

---

[1]) Arb. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 32. Band, 1909.
[2]) Zentralbl. für Bakt. I. Abt. Orig. 79. Band 1917.

Das Verfahren soll nach Angabe der beiden Autoren einfacher sein als die Antiforminmethode und in kürzerer Zeit zum fertigen Präparat führen. Es hat bei 60 vergleichenden Sputumuntersuchungen in drei Fällen noch zu positiven Ergebnissen geführt, in denen sowohl das Antiformin- wie das gewöhnliche Ausstrichverfahren negative Ergebnisse geliefert hatten.

An einem ziemlich großen Untersuchungsmaterial ist diese Methode bereits einer Nachprüfung unterzogen worden. Schmitz und Brauer[1]) kommen nach zahlreichen Parallelversuchen zu dem Ergebnis, daß praktisch das neue Verfahren dem Antiformin mindestens gleichwertig, vielleicht sogar etwas überlegen ist, und sicher weit bessere Ergebnisse liefert als der direkte Ausstrich.

Als Nachteil sind von den beiden Nachuntersuchern die geringen Farbenunterschiede und die dadurch bedingte erhebliche Anstrengung der Augen des Untersuchers empfunden worden. Weiter wird noch darauf hingewiesen, daß man in den Präparaten bei den Rissen zwischen den Eisenschollen oft nicht mit Sicherheit entscheiden könne, ob es sich um Tuberkelbacillen handelt oder nicht.

Diese Nachteile sollen nun bei einer weiteren Methode vermieden werden, die von den beiden zuletzt genannten Autoren[2]) angegeben ist und ebenfalls auf dem Prinzip der Sedimentierung beruht. Die Sputumuntersuchung geht dabei in folgender Weise vor sich:

„Das Sputum wird mit etwa der gleichen Menge Wasser im Reagenzglase verdünnt und einige Tropfen Ammoniak (Salmiakgeist) hinzugegeben.

Die Röhrchen werden zunächst etwa 15 bis 20 Minuten in ein ca. 50° warmes Wasserbad gestellt, darnach werden von einer 10%igen Aluminiumsulfatlösung auf je 10 ccm Sputumflüssigkeit 0,5 ccm hinzugegeben und gut durchgeschüttelt. Nach einer Weile wird das entstandene Sediment nach Zentrifugieren auf Objektträger ausgestrichen, fixiert, in üblicher Weise mit Karbolfuchsin gefärbt, entfärbt und mit Loefflers Methylenblau nachgefärbt.

Das Ergebnis soll sich noch verbessern lassen, wenn man außer der Aluminiumsulfatlösung einige Tropfen einer Chloroform-Alkoholmischung (1 : 1) hinzugibt, dann erst durchschüttelt und zentrifugiert. Es entstehen dabei nach dem Zentrifugieren drei Schichten, von denen zum Ausstrich die mittlere, ringförmige Schicht benutzt und sonst, wie oben angegeben, verfahren wird.

Steht eine Zentrifuge nicht zur Verfügung, so kann man durch leichtes Aufkochen der Flüssigkeit im Reagenzglase den Niederschlag zum Zusammenballen bringen, wie es für Aluminiumniederschläge charakteristisch ist. Der Niederschlag, welcher die stark angereicherten Tuberkelbacillen enthält, wird abfiltriert. Das Ausstreichen geschieht in der üblichen, die Färbung in der oben angegebenen Weise."

Bei zahlreichen Parallelversuchen (1200) konnten die Autoren die meisten positiven Ergebnisse mit dieser Aluminiumsulfatfällung erzielen. Während das Eisenchlorid- und das Antiforminverfahren dem gewöhnlichen Ausstrich in einem Verhältnis von 3 und 6% überlegen waren, wurden mit der Schmitz-Brauerschen Methode die positiven Resultate um 8% gesteigert. Auch geben die Autoren an, daß das neue Verfahren infolge der einfacheren Handhabungsweise schneller zum Ziele führe und wegen der guten Sichtbarkeit und Färbbarkeit des Ausstriches die mikroskopische Untersuchung erleichtere.

Nachdem diese beiden neuen Verfahren auf der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes zusammen mit dem bisher üblichen Antiforminverfahren zur

[1]) Zentralbl. für Bakt. I. Abt. Orig. 81. Band 1918.

[2]) Deutsche mediz. Wochenschr. 1918, Nr. 10. Zentralbl. für Bakt. I. Abt. Orig. 91. Bd. 1918.

Untersuchung einer größeren Anzahl verdächtiger Sputa herangezogen worden sind, soll nachstehend über die bei diesen Paralleluntersuchungen gemachten Erfahrungen kurz berichtet werden.

Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, daß jedes Sputum in drei Teile zerlegt und davon jeweils der erste nach der Antiforminmethode, der zweite mit Ammoniak und Aluminiumsulfat und der dritte Teil mit Kalilauge und Eisenchlorid behandelt wurde.

Bei dem Schmitz-Brauerschen Verfahren gelangte die verbesserte Modifikation der Ausschüttelung durch Chloroform und Alkohol zur Anwendung. Bei der Ditthorn-Schultzschen Methode wurde der sich absetzende Niederschlag vermittels eines glatten Doppelfilters von der überstehenden Flüssigkeit getrennt, was nach den Angaben von Ditthorn und Schultz einfacher ist als das Abzentrifugieren oder Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe und zu ebensolch günstigen Resultaten führen soll.

Im ganzen wurden nach den drei Methoden 59 Sputa verarbeitet, die von Tuberkulosestationen hiesiger Krankenhäuser dem Reichsgesundheitsamte in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt waren.

Die Untersuchungsresultate sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Sputumuntersuchung mit	59 verschiedene Sputa ergaben: A. positive Untersuchungsergebnisse: Gesamtzahl der positiven Untersuchungen	A. Einzelergebnisse: a) mit 1 Methode	A. Einzelergebnisse: b) mit 2 Methoden	A. Einzelergebnisse: c) mit allen 3 Methoden	B. negative Untersuchungsergebnisse: Gesamtzahl der negativen Untersuchungen	B. Einzelergebnisse: a) mit 1 Methode	B. Einzelergebnisse: b) mit 2 Methoden	B. Einzelergebnisse: c) mit allen 3 Methoden
I. Antiformin (Uhlenhuth)	48 × + = 92,3 % der positiven Sputa = 81,3 % aller Sputa	1 × +	I u. II 2 × + I u. III 2 × +	43 × + = 82,7 % der positiven Sputa = 72,9 % aller Sputa	11 × −	2 × −	I u. II 2 × −	7 × −
II. Aluminiumsulfatfällung (nach Brauer und Schmitz)	47 × + = 90,4 % der positiven Sputa = 79,7 % aller Sputa	0 × +	I u. II 2 × + II u. III 2 × +	43 × + = 82,7 % der positiven Sputa = 72,9 % aller Sputa	12 × −	2 × −	I u. II 2 × − II u. III 1 × −	7 × −
III. Eisenchloridfällung (nach Ditthorn und Schultz)	49 × + = 94,2 % der positiven Sputa = 83,1 % aller Sputa	2 × +	I u. III 2 × + II u. III 2 × +	43 × + = 82,7 % der positiven Sputa = 72,9 % aller Sputa	10 × −	2 × −	II u. III 1 × −	7 × −
Gesamtuntersuchungsergebnis:	52 Fälle mit positivem Bacillenbefund = 88,2 %				7 Fälle mit negativem Bacillenbefund nach allen 3 Methoden			

Wie aus der Tabelle hervorgeht, konnten im ganzen bei 52 Sputen Tuberkelbacillen nachgewiesen werden (88,2%). An diesen positiven Ergebnissen waren alle drei Verfahren fast in gleicher Weise beteiligt und zwar das Uhlenhuth-Xylandersche Antiforminverfahren mit 48 Fällen, die Aluminiumsulfatfällung mit 47 und endlich die Eisenchloridmethode mit 49 positiven Ergebnissen. Mit dem Ditthorn-Schultzschen Verfahren konnten somit in zwei Fällen Tuberkelbacillen festgestellt werden, in denen dies durch die Aluminiumsulfatfällung nicht möglich war, und in einem Sputum waren damit Tuberkelbacillen nachzuweisen, bei welchem die Antiforminmethode ein negatives Ergebnis geliefert hatte.

Mit je zwei Verfahren konnten in 6 Fällen, an denen alle drei Methoden in gleicher Weise (nämlich je 4 mal) beteiligt waren, und in 43 Fällen mit allen drei Verfahren Tuberkelbacillen nachgewiesen werden.

Bei diesen Parallelversuchen wurde ebenso wie von Ditthorn und Schultz auch auf den Bacillengehalt der einzelnen Gesichtsfelder geachtet, um festzustellen, welche von den drei zur Verwendung gelangten Methoden die größte Anreicherung der Keime herbeiführte. Bei jedem Präparat wurde deshalb in 10 Gesichtsfeldern der Bacillengehalt festgestellt und daraus die Durchschnittszahl für ein Gesichtsfeld berechnet. Die Tabelle II (Seite 107) enthält die Zusammenstellung dieser Untersuchungsergebnisse.

Danach haben die beiden neuen Fällungsverfahren je 20 mal den höchsten Bacillengehalt im Gesichtsfeld aufzuweisen, während die Antiforminmethode 16 mal eine ausgiebigere Bacillenanreicherung hatte erkennen lassen.

Es bestand somit ein geringes Zurückbleiben der Anreicherungsergebnisse bei der Antiforminmethode, das aber aller Wahrscheinlichkeit nach auf das verwandte Kriegs-Antiforminpräparat zurückzuführen sein wird, da auch von anderen Autoren im Laufe des Krieges auffallende und gegenüber den früheren Erfahrungen unerklärliche negative Anreicherungsbefunde bei Verwendung des Antiformin-Kriegspräparates erhoben worden sind, worauf bereits von Hundeshagen[1]) hingewiesen worden ist.

Wie aus der Tabelle II weiter ersichtlich ist, wurde bei einer Reihe von Sputen auch die Zahl der Gesichtsfelder in den Präparaten festgestellt, welche keine Tuberkelbacillen enthielten, da hieraus ein Urteil über die mehr oder minder gleichmäßige Verteilung der Bacillen über das ganze Präparat gewonnen werden konnte. Auch bei dieser Beobachtung zeigte wieder die Ditthorn-Schultzsche Methode die besten Zahlen, indem sie nur bei 14 Sputen die höchste Anzahl von negativen Gesichtsfeldern aufwies, während beim Antiforminverfahren dies 18 mal und beim Aluminiumsulfat 20 mal der Fall war. Die Beobachtungen ergaben, daß die Verteilung der angereicherten Bacillen über das ganze Präparat bei der Methode nach Ditthorn-Schultz neben der größten Anreicherung am gleichmäßigsten erfolgte, während bei dem Vorgehen nach Schmitz-Brauer die Tuberkelbacillen am unregelmäßigsten über die Ausstriche verstreut waren.

---

[1]) Zentralblatt für Bakteriologie I. Abt. Orig. 1918. 82. Bd., Heft 1.

Tabelle II.

Fall Nr.	Durchschnittlicher Tuberkelbacillengehalt in einem Gesichtsfeld			Fall Nr.	Von 10 Gesichtsfeldern hatten negativen Bacillenbefund		
	I. bei der Antiforminmethode	II. bei der Aluminiumfällung	III bei der Eisenchloridfällung		bei der I. Methode	bei der II. Methode	bei der III. Methode
1	8	15	14				
2	190	75	11				
3	5	7	8				
4	39	485	176				
5	28	11	2				
6	6	85	32	6	4	0	0
7	0	0	2	7	10	7	10
8	6	54	48	8	4	2	0
9	8	171	84	9	2	0	0
10	9	6	5	10	0	5	0
11	0	0	0	11	10	10	10
12	2	80	7				
13	0	0	0				
14	0	∞	∞				
15	3	98	60				
16	0	0	0				
17	1	4	0	17	5	7	6
18	874	0,5	104	18	2	7	0
19	5	4	6	19	6	4	0
20	2	12	0,8	20	2	0	6
21	3	0	1	21	4	10	6
22	5	16	17	22	2	0	0
23	0	0	0				
24	0	0	0				
25	0	4	4				
26	5	4	3	26	2	3	4
27	24	25	14	27	0	1	2
28	∞	34	59	28	0	1	0
29	∞	11	34	29	0	1	2
30	27	7	12	30	0	3	0
31	3	1	2	31	0	6	2
32	5	1	25	32	1	3	0
33	6	3	7	33	0	3	0
34	17	24	12	34	0	0	0
35	3	48	2	35	3	0	3
36	2	21	9	36	3	0	1
37	17	10	27	37	0	0	0
38	0,5	0,2	0,9	38	7	7	9
39	5	5	2	39	2	1	2
40	6	5	2				
41	18	9	2	41	0	0	3
42	8	0,8	1	42	8	7	4
43	1,5	0,2	2	43	4	8	3
44	0,2	0	0,3	44	9	10	8
45	7	0,7	0	45	0	8	10
46	0	0	0	46	10	10	10
47	1,1	1,8	0,9	47	4	6	5
48	0,1	2,4	1,5	48	9	4	3
49	2	0,1	9	49	6	9	0
50	8	3	∞	50	0	9	0
51	100	∞	∞	51	0	0	0
52	2	20	26	52	3	1	0
53	61	77	66	53	1	0	0
54	0,5	0,6	5	54	6	7	1
55	0,1	0	0	55	9	10	10
56	1,2	5	9	56	5	3	0
57	0	0	0,1	57	10	10	9
58	0	0	0	58	10	10	10
59	4	7	86	59	4	4	0
Gesamtergebnis:	16 ×	20 ×	20 ×	Bei 45 Untersuchungen:	18 ×	22 ×	14 ×
	größter Bacillengehalt in einem Gesichtsfeld				größte Anzahl von negativen Gesichtsfeldern		

Hinsichtlich des mikroskopischen Bildes lieferte von den drei Methoden das Antiforminverfahren die kontrastreichsten und klarsten Bilder, während beim Aluminiumsulfat selbst bei der Nachfärbung mit Loefflerschem Methylenblau durchweg nicht so schöne „kontrast-gefärbte Untergrunde“ erhalten wurden, wie sie die Autoren selbst beobachtet haben. Das Eisenchloridverfahren lieferte in seinen Bildern die geringsten Farbenunterschiede, infolgedessen war das Durchsuchen für das Auge des Mikroskopierenden in der Tat außerordentlich anstrengend. Manchmal waren die rotgefärbten Tuberkelbacillen kaum unter den braungelben Eisenschollen zu erkennen und außerdem bedingte die dicke Schicht des Präparates das Durchmustern vieler Gesichtsfelder in den verschiedensten Ebenen, was ebenfalls äußerst ermüdend wirkt.

Dieselben Beobachtungen waren schon von Brauer und Schmitz gemacht worden. Auch hatten diese Autoren, wie schon erwähnt, bereits auf die Unsicherheit hingewiesen, die dadurch entsteht, daß die Eisenschollen auf den Objektträgern vielfach Risse geben, die manchmal Tuberkelbacillen vortäuschen können. Bei den hier angefertigten Präparaten wurden ebenfalls nicht selten solche Risse gefunden, die einen roten Farbton hatten und die Diagnose erschwerten. Auch „durch eine kleine Drehung der Mikrometerschraube“ ließ sich dabei nicht immer „jeder Zweifel“ sofort beheben. Gerade bei zweifelhaften Präparaten war ein gewisses Gefühl der Unsicherheit öfters nur schwer zu vermeiden.

Nachteilig ist ferner, daß bei den beiden neuen Verfahren nicht selten, namentlich bei zähschleimigem Sputum, eine ungenügende Homogenisierung eintritt, die häufig einen recht langen Aufenthalt im Wasserbade bis zur völligen Auflösung des Sputums nötig macht. Bei dickballigem Material war selbst auf diese Weise eine hinreichende Lösung nicht immer zu erzielen, während bei Anwendung des Antiformins die Verflüssigung selbst dicker Sputumballen immer befriedigend ausfiel. Auf diesen Mangel haben bei Gebrauch der Kalilauge als Sputumverflüssigungsmittel bereits früher Schulte[1]) und neuerdings Engelsmann[2]) hingewiesen und erst jüngst wieder ist von Hundeshagen[3]) auf diesen Nachteil sowohl bei der Kalilauge wie beim Ammoniak aufmerksam gemacht worden.

Nach diesen Erfahrungen dürfte wohl Schmitz und Brauer zwar in der Hinsicht zuzustimmen sein, daß das Eisenchloridverfahren bezüglich der zahlenmäßigen Feststellung positiver Ergebnisse vielleicht der Antiforminmethode gleichwertig ist. Anderseits haften ihm aber doch auch ebenso wie der Schmitz-Brauerschen Aluminiumsulfatbehandlung erhebliche Nachteile an, wie sie vorstehend erwähnt wurden, die uns veranlaßt haben, der Uhlenbuth-Xylanderschen Methode den Vorzug zu geben und sie auch weiterhin für unsere Untersuchungen beizubehalten.

Wie Schmitz und Brauer sowie Ditthorn und Schultz angeben, sollen auch bei ihren Verfahren alle Bakterien im Sputum mit Ausnahme der säurefesten aufgelöst werden. Es sind deshalb von mir auch einige Vergleichsversuche nach der Richtung durchgeführt worden, die beiden neuen Sputumvorbereitungsmethoden in

[1]) Med. Klinik 1910, Nr. 5.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1918, Nr. I.
[3]) Zentralblatt für Bakteriologie Orig. 1918, 82. Bd., Heft 1.

gleicher Weise wie das Antiforminverfahren zur Diagnosestellung auf Tuberkelbacillen heranzuziehen und sie außerdem auch zur Reinzüchtung und Kultivierung der Tuberkelbacillen aus positivem Sputum zu benutzen, da die genannten Autoren selbst Versuche nach dieser Richtung noch nicht unternommen hatten.

Bekanntlich haben Uhlenhuth und Xylander[1]) die Tatsache, daß die Begleitbakterien des Sputums durch das Antiformin bei bestimmtem Prozentverhältnis aufgelöst werden, während die Tuberkelbacillen lebensfähig und infektionsfähig bleiben, in der Weise praktisch verwertet, daß sie vermittels Antiformin das Sputum von den übrigen störenden Bakterien befreiten, bevor sie damit die Meerschweinchen zur Diagnosefeststellung auf Tuberkelbacillen infizierten. Sie waren so in der Lage, Meerschweinchen vor septischen Mischinfektionen zu bewahren, die sonst im Anschluß an Injektionen unvorbehandelten Sputums nicht selten aufzutreten pflegen.

Ebenso war es Uhlenhuth und Kersten[2]) in gleicher Weise gelungen, aus dem Sputum der Phthisiker mit Hilfe des Antiformins die Tuberkelbacillen unmittelbar zu züchten. Nach den erwähnten Angaben der Autoren schien es nicht ausgeschlossen, die neuen Nachweisverfahren ebenfalls zum Meerschweinchenversuch und zur Tuberkelbacillenreinzüchtung benutzen zu können.

Allerdings war es bei den Sputumparalleluntersuchungen ziemlich regelmäßig aufgefallen, daß sich in den Antiforminausstrichen nur selten Begleitbakterien fanden, während in den Eisenchlorid- wie bei den Aluminiumsulfatpräparaten, die mit Methylenblau nachgefärbt waren, viel häufiger andere Stäbchen und Kokken nachweisbar waren.

Nach diesen Beobachtungen schon war es keine Frage, daß durch die Einwirkung der Kalilauge und des Ammoniaks die anderen Begleitbakterien nicht aufgelöst wurden, und es schien sehr wohl möglich, daß sie vielleicht auch ihre Lebensfähigkeit behielten.

Daraufhin angestellte Versuche haben im allgemeinen diese Annahme bestätigt.

Wie aus der Tabelle III (Seite 110) hervorgeht, konnte durch die vergleichenden Versuche festgestellt werden, daß zwar eine 15 %ige Antiforminlösung schon nach 20 Minuten die Abtötung von sämtlichen bei den Versuchen benutzten Keimen herbeiführte, während 15%ige Kalilauge und 10%iges Ammoniak in den von Ditthorn-Schultz und von Schmitz-Brauer angegebenen Mengen dieselben Bakterien in 20 Minuten in keinem Falle und nach 1 und 2 Stunden Einwirkung nur selten abzutöten vermochten.

Entsprechend war auch der Ausfall der angestellten Tier- und Kulturversuche.

Es wurde dabei genau nach dem Vorgange Uhlenhuths verfahren.

Eine größere tuberkelbacillenhaltige Sputummenge wurde mit sterilem Wasser verrührt und zu gleichen Teilen in drei Erlenmeyerkölbchen gebracht und in jedem die Flüssigkeitsmenge mit sterilem Wasser auf 75 ccm aufgefüllt, sodann dem ersten Gläschen 7,5 ccm einer 15%igen Kalilauge, dem zweiten etwas Salmiakgeist und dem dritten 12,0 ccm Antiformin zugesetzt. Die beiden ersten Kölbchen kamen in ein 50° C Wasserbad und das dritte in den 37° Brutschrank.

Nach 20 Minuten, 1 und 2 Stunden wurden jedem Kölbchen je 25 ccm Flüssigkeit entnommen und diese in große Zentrifugenröhrchen gebracht. Nachdem jedesmal dem ersten je 1,8 ccm 20%iger Eisenchloridlösung und dem zweiten je 1,25 ccm einer 10%igen Aluminiumsulfatlösung zugesetzt waren, wurden alle so lange zentrifugiert, bis sich ein ordentliches Sediment

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 32, 1909.

[2]) Zeitschr. für experimentelle Pathologie und Therapie. Juli 1909. Festschrift für Brieger.

Tabelle III.

2 ccm einer Kochsalzabschwemmung einer Schrägagarkultur von:	Einwirkung von 0,2 ccm einer 15 %igen Kalilauge			Einwirkung eines Tropfens 10 %iges Ammoniak			Einwirkung von 0,3 ccm einer 100 %igen Antiforminlösung		
	20 Min. lang	1 Std. lang	2 Std. lang	20 Min. lang	1 Std. lang	2 Std. lang	20 Min. lang	1 Std. lang	2 Std. lang
1. Coli 110	+	+	+	+	+	—	—	—	—
2. Coli 109	+	+	+	+	—	—	—	—	—
3. Typhus R.	+	+	+	+	+	+	—	—	—
4. Typhus 682	+	+	+	+	+	+		—	—
5. Paratyphus B Heinem.	+	+	+	+	+	+		—	—
6. Paratyphus B. Brocken	+	+	+	+	+	—	—	—	—
7. Paratyphus A	+	+	+	+	—	—	—	—	—
8. Gärtner	+	+	+	+	+	+	—	—	—
9. Staphylococcus Höhne	+	+	+	+	+	+		—	
10. Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	—	—	—
11. Staphylococcus Kl.	+	+	+	+	+	+	—	—	—
12. Milzbrand	+	+	+	+	+	+	—	—	—
13. Milzbrand Nauen	+	+	+	+	+	+	—	—	—
14. Cholera virul.	+	+	+	+	—	—	—	—	—
15. Cholera Breger	+	+	+	+	+	—	—	—	—
16. Fäcal. alkalig.	+	+	—	+	+	+	—	—	—
17. Prodigiosus	+	—	—	+	—	—	—	—	—
18. Pyocyaneus	+	+	+	+	—	—	—	—	—
19. Subtilis	+	+	+	+	+	+	—	—	—
20. Y-Ruhr	+	+		+	+	+	—	—	—
21. Flexner-Ruhr	+	—	—	—	—	—	—	—	—
22. Proteus	+	+	+	+	+	+	—	—	—
23. Proteus Hyg.	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Zeichenerklärung: + = nicht abgetötet
— = abgetötet.

abgesetzt hatte. Diese Bodensätze wurden dreimal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und abzentrifugiert und die eine Hälfte der Zentrifugate zur Anlegung von Kulturen verwandt, indem je 4—5 Ösen Bodensatz auf erstarrten Glyzerinserumröhrchen fest eingerieben wurden. Nach Verschluß mit Paraffin kamen sie für ca. drei Wochen in den 37° Brutschrank.

Der andere Teil der Zentrifugate wurde in wenig Kochsalzlösung aufgeschwemmt, Meerschweinchen subcutan injiziert und diese in der Folgezeit weiter beobachtet.

Auf den Glyzerinserumröhrchen, die mit den nach Ditthorn-Schultz und Schmitz-Brauer behandelten Bodensätzen beschickt waren, war in keinem Falle eine Reinkultur von Tuberkelbacillen zu gewinnen, sie waren vielmehr durchwegs stark verunreinigt und von Sporenbildnern und Kokken überwuchert, während die Antiformin-Kulturröhrchen zum größten Teil Reinkulturen lieferten und zwar sowohl wenn das 15 %ige Antiformin 20 Minuten, als wenn es 1 oder 2 Stunden auf das Sputum eingewirkt hatte.

Auch bei den Tierversuchen lieferten die beiden neuen Verfahren keine befriedigenden Ergebnisse. Während die Tiere, welche mit den Antiforminzentrifugaten geimpft waren, entweder an Tuberkulose eingingen oder am Ende einer sechswöchigen

Beobachtungszeit nach der Schlachtung einen typischen tuberkulösen Sektionsbefund aufwiesen, starben, wie aus Tabelle IV hervorgeht, von den anderen Tieren die mit den 20 Minuten lang behandelten Eisenchlorid- und Aluminiumsulfat-Niederschlägen geimpften Meerschweinchen schon einige Tage nach der Injektion an Staphylokokkensepsis. Ebenso erlagen nach 3—4 Wochen noch drei weitere dieser Tiere derselben Infektion. Bei den Meerschweinchen fanden sich bei der Obduktion in Leber und Milz zahlreiche Knötchen, in denen Staphylokokken nachweisbar waren. Außerdem hatten sich an der Injektionsstelle zwischen den Abdominalfaszien Abszesse gebildet, die neben den oben erwähnten Keimen schwach rot gefärbte, in ihrer Struktur stark veränderte Tuberkelbacillen erkennen ließen. Ein sechstes Tier wurde nach sechswöchiger Beobachtungszeit umgebracht und hatte außer einer narbigen Infiltration an der Einspritzungsstelle keine pathologischen Befunde aufzuweisen.

Tabelle IV.

Versuche angestellt am 7. August 1918.

Injektion erfolgte nach Einwirkung von	7,5 ccm einer 15 % igen Kalilauge auf 75 ccm Sputumflüssigkeit	0,5 ccm Ammoniak auf 75 ccm Sputumflüssigkeit	12,0 ccm Antiformin auf 75 ccm Sputumflüssigkeit
20 Minuten	1. Meerschweinchen Nr. 278. † 9. 8. an Staphylokokkensepsis. Im Blut Staphylokokken +	1. Meerschweinchen Nr. 279. † 15. 8. Staphylokokkensepsis. Blut Staphylokokken +. Abszeß an der Injektionsstelle. Kokken +. Wenige Tuberkelbacillen +.	1. Meerschweinchen Nr. 282. Geschlachtet am 18. 9. Tuberkulose +.
1 Stunde	2. Meerschweinchen Nr. 280. † 27. 8. Staphylokokkeninfektion. Knötchen in Leber und Milz-Staphylokokken +. Abszeß an Injektionsstelle, in dem wenig Tuberkelbacillen nachweisbar.	2. Meerschweinchen Nr. 281. Geschlachtet am 18. 9. Nirgends tuberkulöse Herde. An Injektionsstelle starke Narbenbildung im Zwischenzellgewebe.	2. Meerschweinchen Nr. 285. Geschlachtet am 18. 9. Tuberkulose +.
2 Stunden	3. Meerschweinchen Nr. 283. † 3. 9. Staphylokokken im Abdominalabszeß. Tuberkulose —.	3. Meerschweinchen Nr. 284. † 3. 9. Multiple Knötchen in Leber und Milz, in denen Staphylokokken nachweisbar. Intrafaszialer Abszeß an der Injektionsstelle, in dem viel Kokken und wenig Tuberkelbacillen nachweisbar.	3. Meerschweinchen Nr. 286. 6. 9. † an Tuberkulose.

Bei den Antiformintieren wurde eine Mischinfektion nicht beobachtet.

Es war somit auch in diesen Fällen vermittels des Antiforminverfahrens gelungen, stark verunreinigtes tuberkelbacillenhaltiges Sputum so vorzubereiten, daß die damit geimpften Tiere vor störenden Mischinfektionen bewahrt blieben, während ein ent-

sprechendes Ergebnis mit der Ditthorn-Schultzschen und mit der Schmitz-Brauerschen Methode nicht erreicht wurde. Diese Verfahren sind daher für die diagnostische Meerschweinchen-Sputumimpfung wie für die Züchtung von Reinkulturen von Tuberkelbacillen aus dem Sputum wenig geeignet und jedenfalls nicht dafür zu empfehlen.

Zusammenfassung.

1. Das Ditthorn-Schultzsche Tuberkelbacillen-Anreicherungsverfahren hat sich bezüglich der zahlenmäßigen Feststellung positiver Ergebnisse der Antiforminmethode gleichwertig erwiesen. Die Homogenisierung zähschleimigen Sputums erfolgt dabei aber durch die Kalilauge schlechter wie durch das Antiformin. Auch ist das Durchsuchen der Eisenchloridpräparate wegen der wenig kontrastreichen Bilder bei diesem Verfahren besonders mühsam und anstrengend. Ein weiterer Nachteil des Verfahrens besteht darin, daß in den Präparaten zwischen den Eisenschollen auf den Objektträgern Risse von rotem Farbton auftreten, die unter Umständen Tuberkelbacillen vortäuschen und dadurch Anlaß zu Zweifeln und einer gewissen Unsicherheit in der Diagnose geben können.

2. Die Schmitz-Brauersche Aluminiumsulfat-Methode hat gegenüber dem Antiforminverfahren keine Verbesserung der Untersuchungsresultate erkennen lassen. Zähschleimige Sputa werden dabei ebenfalls durch Ammoniak nicht so gut homogenisiert wie durch das Antiformin bei dem Uhlenhuthschen Verfahren.

3. Eine Auflösung oder Abtötung der Begleitbakterien des Sputums wird bei den angewandten Versuchsbedingungen weder durch Kalilauge noch durch Ammoniak hervorgerufen. Die beiden neuen Anreicherungsverfahren lassen sich deshalb nicht in der gleichen Weise wie die Antiforminmethode für die diagnostische Meerschweinchenimpfung oder zur Reinzüchtung der Tuberkelbacillen aus dem Phthisikersputum verwenden.

Untersuchungen über das Vorkommen von paratyphusähnlichen Bakterien beim Pferde und ihre Beziehungen zum seuchenhaften Abortus der Stuten.

Von

Dr. Gminder,
wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Einleitung.

Paratyphusähnliche Bacillen spielen in der Ätiologie der Tierseuchen eine große Rolle. Auch der seuchenhafte Abortus der Stuten, der nach den bisherigen Erfahrungen keine ätiologische Einheit darzustellen scheint, konnte des öfteren auf Infektionen mit Bakterien der Paratyphusgruppe zurückgeführt werden. Besonders bemerkenswert sind in dieser Hinsicht die Seuchengänge 1913—1916, über die ich in der Veterinärabteilung des Reichsgesundheitsamts Untersuchungen angestellt habe, deren Ergebnisse in vorliegender Arbeit zusammengefaßt sind.

Literatur.

Der infektiöse Abortus der Stuten oder das seuchenhafte Verfohlen, das in Deutschland nicht so allgemein verbreitet ist wie das seuchenhafte Verwerfen der Kühe, hat zu gewissen Zeiten die Pferdezucht sehr empfindlich geschädigt.

Die Krankheit ist Ende des 18. und zu Anfang des 19. Jahrhunderts in den westlichen Ländern Europas, namentlich in Frankreich häufig beobachtet worden. In der französischen Literatur finden sich auch die ersten zuverlässigen Berichte über das Auftreten, den Verlauf und die Weiterverbreitung des seuchenhaften Verfohlens in einzelnen Pferdezuchtgebieten.

Obwohl zu jener Zeit die Infektiosität des Leidens von den meisten Autoren bestritten und die Ursache hauptsächlich in ungünstigen hygienischen Einflüssen, wie schroffem Futterwechsel, schlechter Beschaffenheit des Futters, schlechter Witterung u. dergl. m. gesucht worden ist, so deuten doch die verschiedensten zu jener Zeit empfohlenen Maßnahmen zur Verhütung der Krankheit darauf hin, daß einige Tierärzte schon früh den ansteckenden Charakter der Krankheit erkannt hatten.

Die ersten genaueren Angaben über das Verwerfen der Stuten stammen von Flandrin, der berichtet, daß die Landwirte allgemein das Leiden für ansteckend hielten. Während später Bouley, Hering, Stockfleth und die meisten Tierärzte eine Infektion völlig in Abrede stellten, war Zündel schon 1870 der Meinung, daß

die Krankheit nur als eine ansteckende betrachtet werden könne. Die gleiche Ansicht wurde von Saint Cyr, Biot, Frank, Roloff u. a. vertreten. Im Jahre 1887 hat dann Gsell bei einer trächtigen Stute, in deren Scheide er den Scheidenausfluß einer verwerfenden Stute übertrug, das Verfohlen künstlich erzeugt und damit den Beweis für die Übertragbarkeit des Leidens erbracht. Von diesem Zeitpunkt an wurde die Infektiosität des Verfohlens fast allgemein angenommen, obwohl zunächst noch namhafte Forscher wie Nocard u. a. der Ansicht mit Zweifel begegneten, die erst später schwanden, als Bang und Stribolt im Jahre 1897 den Erreger des seuchenhaften Verwerfens der Kühe entdeckten. Der Gedanke, daß der seuchenhafte Abortus der Stuten vielleicht von dem gleichen Erreger verursacht werden könnte, lag anfangs sehr nahe. Bang stellte denn auch mit dem von ihm beim Rinde gefundenen Abortusbacillus einen Infektionsversuch bei einer trächtigen Stute an, der von Erfolg begleitet war und der ihn zu der Annahme führte, daß das seuchenhafte Verfohlen wahrscheinlich die gleiche Ursache habe wie das seuchenhafte Verkalben. Diese Meinung vermochte jedoch von Anfang an keinen festen Boden zu gewinnen und wurde schließlich gänzlich verlassen, als Ostertag bei dem im Jahre 1900 in norddeutschen Gestüten auftretenden seuchenhaften Verfohlen in keinem einzigen Fall den Bangschen Abortusbacillus nachweisen konnte. Ostertag hat eine größere Anzahl von Fruchthüllen und verworfenen Föten untersucht und im subchorialen Ödem sowie im Herzblut, in der Brusthöhlenflüssigkeit und im Mageninhalt abortierter Föten einen kurzen Streptokokkus gefunden, der sich nach Gram entfärbte, auf künstlichen Nährböden schwer zu züchten war und auf erstarrtem Serum kleine, kaum sichtbare Kolonien bildete. Eine mit Reinkultur dieses Streptokokkus intravenös geimpfte Stute hat einige Zeit zu früh ein schwaches, aber lebendes Fohlen geboren. Durch Übertragung von Eihautstückchen und Fruchtwasser abortierter Fohlen in die Scheide trächtiger Kühe, konnte das Verwerfen nicht hervorgerufen werden. Dadurch wurde erwiesen, daß zwischen dem seuchenhaften Verfohlen und dem seuchenhaften Verkalben kein ursächlicher Zusammenhang besteht. Ostertag ist es demnach gelungen, in bestimmten Fällen von seuchenhaftem Verfohlen die spezifische Ursache zu finden. Die Frage, ob dieser Ostertagsche Streptokokkus immer der Erreger des seuchenhaften Verfohlens sei, bedurfte jedoch noch der Klärung, um so mehr, als einige Jahre zuvor Smith und Kilborne in Fällen von seuchenhaftem Verfohlen auf der Vaginalschleimhaut der Muttertiere einen Bacillus gefunden hatten, der in der Scheide gesunder trächtiger Stuten nicht vorkam und in seinem morphologischen und kulturellen Verhalten Ähnlichkeit mit dem Hogcholerabacillus zeigte, also zur Gruppe der Paratyphus B-Enteritisbacillen zu rechnen war.

Untersuchungen von Turner, Lignières u. a. führten zu ähnlichen Ergebnissen.

In neuerer Zeit wurde in Arbeiten von Dassonville, Rivière, Meyer und Boerner, de Jong, van Heelsbergen, Lautenbach und Mießner übereinstimmend über das Vorkommen von paratyphusähnlichen Bacillen beim seuchenhaften Abortus der Stuten berichtet.

Außer den aufgeführten Arbeiten sind eine Reihe von Abhandlungen über das seuchenhafte Verfohlen erschienen, die sich jedoch weniger mit der Ursache als mit

dem Wesen, den klinischen Erscheinungen und der Behandlung dieser Krankheit beschäftigen. Besonders zu erwähnen ist eine Veröffentlichung von Guillerey, der eine gutartige und eine bösartige Form des seuchenhaften Verfohlens unterscheidet.

Die erstere Form ist die häufigere und kommt mit einer Inkubationszeit von 8 bis 18 Tagen zu allen Zeiten, aber meistens in der Zeit zwischen dem 4. und 7. Monat der Trächtigkeit vor. Der Fötus wird fast immer in den Eihüllen geboren oder diese folgen bald nach. Die Eihüllen selbst sind leicht verändert, von brauner Farbe, mit punktförmigen Blutungen und einem grauen Überzug versehen und oft von ödematöser Beschaffenheit. Der grauweiße, schleimig-eiterige Scheidenausfluß, der 2 bis 3 Tage vor der Geburt eintritt, dauert noch während der nächsten 2 bis 3 Tage an. Die vor dem Verwerfen geschwollenen Schamlippen und Milchdrüsen verkleinern sich rasch und nach 4 bis 5 Tagen ist das Tier wieder arbeitsfähig. Während bei der gutartigen Form die Abortusfälle in Abständen von 2 bis 3 Wochen vorkommen, folgen die Fälle der bösartigen Form mit einer Inkubationsdauer von 3 bis 5 Tagen viel rascher aufeinander. Die bösartige Form des seuchenhaften Verfohlens hat häufig Zurückhalten der Nachgeburt und Metritis zur Folge und ist mit den verschiedensten Krankheiten wie infektiöse Arthritis, Sehnen- und Sehnenscheidenentzündung, Rehe, Hämoglobinurie, Phlebitis und Euterentzündung kompliziert.

Ob alle die von Guillerey als Komplikationen des seuchenhaften Verfohlens angesprochenen Krankheiten mit dem seuchenhaften Abortus in ursächliche Beziehung gebracht werden können, ist nicht sicher und muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Von Sohnle, Turner u. a. wird auch die Fohlenlähme auf eine Infektion mit dem Erreger des seuchenhaften Abortus der Stuten zurückgeführt. Ostertag hat sich auf Grund seiner Untersuchungen gegen diese Ansicht ausgesprochen.

Eigene Untersuchungen.

Untersuchungsmaterial von seuchenhaftem Abortus der Stuten wurde in der Zeit von Ende 1913 bis Mitte 1914 nur vereinzelt eingesandt. Die Einsendung des Materials von 37 Fällen von Verwerfen erfolgte in kurzen Zeiträumen, im Herbst 1914 und Winter 1914/15. Insgesamt sind 43 Fälle von seuchenhaftem Verfohlen bakteriologisch und serologisch untersucht worden.

Vorgeschichte.

Über das Verfohlen, das im Herbst 1914 in mehreren deutschen Gestüten plötzlich stark überhand nahm, wurde von dem Gestütstierarzt des einen Gestüts, aus dem das meiste Untersuchungsmaterial stammte, folgendes berichtet:

Das Abfohlen im Vorjahr war normal. Infolge des nassen Sommers und Herbstes im Vorjahre waren die Weiden weich und die Laufplätze grundlos schmutzig. Vielfach kamen schwere Hufeiterungen vor, die mitunter zum Tode führten. In zwei Herden trat die „rote Ruhr“ sehr stark auf. Viele Fohlen kamen schon krank zur Welt und gingen bald nach der Geburt ein. Im Spätfrühjahr wurden viele Fohlen kreuzlahm. Die beiden Herden, in denen die Fohlenruhr geherrscht hatte, wurden später nach anderen, weiter entfernten Gestüten gebracht. Im Anschluß an den

Transport trat zuerst unter den Mutterstuten der einen Herde und nach einigen Wochen auch unter denen der anderen Herde das seuchenhafte Verfohlen auf.

Hervorzuheben ist, daß der Stall, in dem die ersten Abortusfälle vorkamen, etwa ein Vierteljahr leergestanden hatte, und Verfohlen bei den früher darin untergebrachten Pferden nie beobachtet wurde. Als Weide dienten gute Wiesen, die mehrere Jahre hindurch nicht beweidet worden waren. Das seuchenhafte Verfohlen griff in den beiden Herden so rasch um sich, daß in einem Zeitraum von mehreren Wochen fast alle Mutterstuten abortierten.

Untersuchungsmaterial.

Zu den Untersuchungen diente Material von 44 Fällen von seuchenhaftem Verfohlen. Im einzelnen sind dem Reichsgesundheitsamt zugegangen:

33 abortierte Föten,
7 Nachgeburten mit Eingeweiden von abortierten Fohlen,
3 Nachgeburten mit 3 Proben Scheidenschleim und
33 Blutproben von Stuten, die verworfen hatten.

An dem eingesandten Material waren in allen Fällen krankhafte Veränderungen festzustellen.

Veränderungen an den Fruchthüllen.

Die Untersuchung der Nachgeburten bot immer das gleiche Bild.

Die Oberfläche des Chorions, das eine graurote bis dunkelrote Farbe hatte und mit fleckigen, streifenförmigen Blutungen durchsetzt oder diffus gerötet war, zeigte einen grauen, schmierigen, geruchlosen Belag. Das unter dem Chorion liegende Bindegewebe war mehr oder weniger stark verdickt und infiltriert. Das Infiltrat, das die subchorialen Bindegewebsmaschen erfüllte, hatte eine glasig-schleimige oder sulzige Beschaffenheit. Diese Veränderung, die auch beim seuchenhaften Abortus der Kühe beobachtet und als subchoriales Ödem bezeichnet worden ist, folgte gewöhnlich dem Verlauf der prall gefüllten Blutgefäße.

Der Nabelstrang war durch die Infiltration der Warthonschen Sulze erheblich verdickt und ließ größere und kleinere Blutungen unter der Amnioshülle erkennen.

Befunde an Föten.

Die meist zwischen dem 5. und 8. Monat der Trächtigkeit verworfenen Föten zeigten die Erscheinungen des Ikterus. Das Meconium war stets abgegangen und die Schwanzwurzel und die Umgebung des Afters mit gelbem, dünnbreiigem Darminhalt beschmiert, der in einigen Fällen mit Blut vermischt war.

Das Unterhautbindegewebe des Bauches und der Unterbrust sowie das intermuskuläre Bindegewebe, namentlich der Brustmuskeln, wies ausgedehnte blutig-seröse Infiltrationen auf.

In der Bauchhöhle, der Brusthöhle und im Herzbeutel fanden sich größere Mengen einer klaren oder getrübten, goldgelben, serösen Flüssigkeit.

An den inneren Organen waren bald mehr, bald weniger augenfällige Veränderungen zu beobachten, die sich als eine Entzündung des Magendarmkanals kenn-

zeichneten, von der namentlich der Dünndarm ergriffen war, und die in einigen Fällen einen ausgesprochen hämorrhagischen Charakter trugen. Die Leber war öfters geschwollen, sehr blutreich und brüchig. Die Milz, an der meist punktförmige subkapsuläre Blutungen festzustellen waren, erschien nur leicht geschwollen. Die Harn- und Geschlechtsorgane zeigten eine normale Beschaffenheit. Von den Organen der Brusthöhle war die Lunge unverändert. Der Herzmuskel war meist graurot, mürbe und brüchig. In einigen Fällen konnten kleine, punktförmige, subepikardiale Blutungen an den Längsfurchen des Herzens festgestellt werden.

Mikroskopische Untersuchung.

Aus dem Scheidenschleim, dem Chorionbelag, dem Fruchtwasser, ferner aus der Brusthöhlen-, Bauchhöhlen- und Herzbeutelflüssigkeit sowie aus den inneren Organen der eingesandten Föten wurden zahlreiche Ausstrichpräparate gefertigt. Die Untersuchung der verschieden gefärbten Ausstriche lieferte indessen kein klares, übereinstimmendes Ergebnis.

In den aus dem Scheidenschleim und aus dem Chorionbelag angefertigten Ausstrichen fanden sich neben koliähnlichen Kurzstäbchen lange, schlanke, fadenbildende Stäbchen sowie Staphylokokken und kurze Streptokokken. Die Ausstriche aus der Brust-, Bauch- und Herzbeutelflüssigkeit sowie die Ausstriche aus dem Blut enthielten verhältnismäßig wenig Bakterien. Sehr zahlreiche Bakterien enthielten dagegen die Ausstriche aus der Leber, der Milz und den übrigen Organen.

In allen diesen Ausstrichen fanden sich in überwiegender Mehrzahl koliähnliche Kurzstäbchen. Daneben konnten in spärlicher Anzahl Staphylokokken, Diplokokken und kurze Streptokokken festgestellt werden.

In den nach Gram gefärbten Ausstrichen waren in einigen Fällen neben den zahlreichen gramnegativen Bakterien grampositive Kokken zu sehen.

Die mikroskopische Untersuchung der aus dem eingesandten Material angefertigten Ausstrichpräparate hat demnach ein klares, irgendwie verwertbares Ergebnis nicht geliefert.

Kulturverfahren.

In den einzelnen der zu untersuchenden Fälle wurde mit Material aus dem Chorionbelag, dem Fruchtwasser, dem Exsudat der Bauch- und Brusthöhle, aus Herz, Leber, Milz und Nieren, aus dem Inhalt des Magendarmkanals sowie aus den Muskeln, Knochen und Rückenmark der abortierten Fohlen eine große Anzahl von flüssigen und festen Nährböden beimpft.

Als Kulturmedien wurden dabei verwendet: Bouillon, Traubenzuckerbouillon, Glycerinbouillon, Serum, Serumbouillon, Amniontraubenzuckerbouillon, Agar, Glycerin-, Serum- und Traubenzuckeragar sowie erstarrtes Pferde- und Rinderserum mit und ohne Glycerinzusatz, ferner Drigalski- und Malachitgrünagar.

Die Züchtung erfolgte unter aëroben und anaëroben Verhältnissen. Gleichzeitig wurden noch verschiedene Kulturverfahren in Anwendung gebracht, wie sie bei der Züchtung des Bangschen Abortusbacillus gebräuchlich sind.

Ergebnisse der Züchtungsversuche.

In mehreren Fällen konnte aus dem Untersuchungsmaterial ein Bacillus gezüchtet werden, der in Agarschüttelkulturen ein zonenförmiges Wachstum zeigte, mit dem Bangschen Abortusbacillus jedoch nicht identisch war und nach den weiteren Untersuchungen auch in keiner ursächlichen Beziehung zum seuchenhaften Verfohlen stand. Im übrigen ließen die angewandten Züchtungsmethoden keine Anhaltspunkte für das Vorkommen des Bangschen Abortusbacillus im Untersuchungsmaterial von seuchenhaftem Verfohlen gewinnen.

Der von Ostertag früher regelmäßig gefundene Streptokokkus, dessen ursächliche Beziehung zum seuchenhaften Verfohlen durch Infektionsversuche erhärtet wurde, konnte in den von mir untersuchten Fällen nicht nachgewiesen werden. Dagegen war in allen Fällen und in allen Kulturen ein reichliches Wachstum von paratyphusähnlichen Keimen zu verzeichnen. Ein Fall, wo in jedem der beimpften Nährböden Reinkulturen gleichartiger Bakterien aufgegangen wären, ist nie beobachtet worden. Wohl ist es gelungen aus einzelnen Organen, z. B. aus dem Herzen und aus dem Knochenmark, Reinkulturen paratyphusähnlicher Keime zu erhalten, in den aus anderen Organen des gleichen Fötus angelegten Kulturen waren jedoch neben paratyphusähnlichen, noch Kolonien von mehreren anderen Bakterien nachzuweisen. So fanden sich in einigen Kulturen grampositive Mikrokokken neben Kolibakterien und gramnegativen Streptokokken als Begleitbakterien vor. Die meisten Kulturen enthielten gramnegative Streptokokken, die mit den von Ostertag beschriebenen nicht übereinstimmten, ferner gramnegative Staphylokokken, Kolibacillen und andere Bakterien. In allen Mischkulturen überwogen aber die paratyphusähnlichen Bakterien an Zahl. Am besten war dies auf der Drigalskiplatte zu sehen, auf der so zahlreiche Kolonien paratyphusähnlicher Keime gewachsen waren, daß sie wie dicht besät erschien.

Infektionsversuche.

Zum Zwecke weiterer bakteriologischer Untersuchungen und zur Feststellung, ob das Verwerfen der Stuten auch auf andere Tiere übertragen werden kann, wurden verschiedene trächtige Versuchstiere mit frisch eingesandtem Untersuchungsmaterial von seuchenhaftem Verfohlen infiziert. Leider standen zu diesen Versuchen nur kleinere Versuchstiere zur Verfügung.

Das Infektionsmaterial und die Art der künstlichen Infektion waren verschieden.

Als Infektionsmaterial dienten das Exsudat aus der Bauchhöhle abortierter Fohlen, ferner die mittels Pipette durch Abspülen mit physiologischer Kochsalzlösung gewonnene Abschwemmung des Chorionbelags und endlich Teile der Nachgeburt selbst.

1. Infektionsversuch mit Exsudat aus der Bauchhöhle eines abortierten Fötus.

Mit 0,5 ccm Bauchhöhlenflüssigkeit, die eine goldgelbe Farbe und eine zähe, dickliche Beschaffenheit hatte, und auf sterile Weise einem abortierten Fötus entnommen worden war, wurden 2 trächtige Ratten und 1 Meerschweinchen subcutan und 1 Meer-

schweinchen mittels Pipette intravaginal geimpft. Ferner wurde 0,1 ccm des gleichen Materials, das mit steriler physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm ergänzt worden war, einem Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt.

Von den geimpften Versuchstieren verwarfen die beiden Ratten am 2. Tage, das subcutan geimpfte Meerschweinchen und das intravenös infizierte Kaninchen am 4. Tage und das intravaginal geimpfte Meerschweinchen am 5. Tage nach der Infektion.

2. Infektionsversuch mit Chorionschleim.

Ein etwa handtellergroßes Stück des Chorions wurde mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung mittels Pipette abgespült. Mit 0,5 ccm dieser Abschwemmung wurde 1 Ratte intraperitoneal, 1 Ratte und 1 Meerschweinchen und 1 Kaninchen intravaginal geimpft.

Die intraperitoneal geimpfte Ratte abortierte schon am Tage nach der Impfung. Von den beiden subcutan geimpften Tieren verwarf die Ratte am 2. Tag und das Meerschweinchen am 3. Tage nach der Infektion. Das intravaginal geimpfte Meerschweinchen verwarf am 7. Tage und das auf die gleiche Weise infizierte Kaninchen am 8. Tage nach der Impfung.

3. Infektionsversuch mit Teilen der Fruchthüllen.

Zwei trächtigen Kaninchen wurde in eine künstlich geschaffene Hauttasche im Unterhautbindegewebe des Bauches ein kleines Stückchen des Chorions eingenäht.

Ferner wurden in einem anderen Fall zwei trächtige Ratten mit kleinen Stückchen einer Nachgeburt gefüttert.

Die beiden letzteren verwarfen am 3. Tage, die Kaninchen am 4. und 7. Tage nach der Infektion.

Jedes der zu diesen Infektionsversuchen benutzten Versuchstiere wurde unmittelbar oder einige Stunden nach erfolgtem Abortus getötet.

Aus dem mehr oder weniger entzündeten Uterus und den in manchen Fällen geringgradig entzündeten, meist jedoch unveränderten inneren Organen der getöteten Tiere, sowie aus den verworfenen Früchten, konnten paratyphusähnliche Bakterien gezüchtet werden, wie sie schon im eingesandten Untersuchungsmaterial von seuchenhaftem Verfohlen gefunden wurden. Meistens konnten sogar aus den inneren Organen solcher Tiere wie aus der Leber, aus der Milz und aus dem Herzen, Reinkulturen dieser Bakterien gewonnen werden.

Die mit eingesandtem Untersuchungsmaterial an kleineren, trächtigen Versuchstieren angestellten Infektionsversuche haben demnach ergeben, daß sämtliche auf verschiedene Weise infizierten Tiere 1 bis 8 Tage nach der Infektion verwarfen, und daß aus den inneren Organen dieser Tiere und aus den ausgestoßenen Früchten paratyphusähnliche Bakterien gezüchtet werden konnten, wie sie auch in dem eingesandten Material vorkamen.

Um nun des weiteren festzustellen, ob die paratyphusähnlichen Bakterien in der Tat das Verwerfen hervorzurufen vermögen, wurden zunächst mit Reinkulturen dieser Bakterien kleinere, trächtige Versuchstiere infiziert.

Infektionsversuche mit Reinkulturen der paratyphusähnlichen Bakterien.

Zu den mit Reinkulturen paratyphusähnlicher Bakterien vorgenommenen Infektionsversuchen wurden 24 stündige, gut gewachsene Schrägagarkulturen von verschiedenen Stämmen benutzt, die aus dem eingesandten Material von seuchenhaftem Verfohlen isoliert und mehrfach umgezüchtet worden waren.

Zur Bereitung des Infektionsmaterials wurde eine Normalöse voll Kultur in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung durch Schütteln fein verteilt und zu $^{1}/_{10}$ bis $^{1}/_{20}$ Öse verdünnt.

Die Gesamtmenge des Infektionsmaterials betrug stets 1 ccm.

Zunächst wurden 3 Kaninchen, 3 Meerschweinchen und 5 Ratten infiziert.

1. Versuche an trächtigen Kaninchen.

Von den 3 Kaninchen wurde 1 mit $^{1}/_{20}$ Öse Kultur intravenös, 1 mit $^{1}/_{10}$ Öse Kultur subcutan und 1 mit $^{1}/_{10}$ Öse Kultur intravaginal geimpft. Der Versuch ergab, daß das intravenös geimpfte Kaninchen am 3. Tage, das intravaginal infizierte am 5. Tage nach der Impfung abortierten und das subcutan geimpfte Kaninchen am 5. Tage nach der Infektion verendete.

Letzteres zeigte vor seinem Tode eine Schwellung der Scham und einen blutigen Ausfluß aus der Scheide. Die Sektion ergab eine Entzündung des Bauchfells und des Darmes. Die Gebärmutter war ebenfalls stark entzündet und enthielt ein eitriges Exsudat. Die Früchte waren mazeriert.

Aus dem Uterusexsudat, aus der Leber und aus dem Herzen des Tieres konnten paratyphusähnliche Bakterien gezüchtet werden. Die beiden anderen Kaninchen wurden nach dem stattgehabten Abortus getötet. Aus ihren Organen konnten diese Bakterien ebenfalls und zwar in Reinkultur gewonnen werden.

2. Versuche an trächtigen Meerschweinchen.

Von 3 Meerschweinchen wurde 1 mit $^{1}/_{20}$ Öse Kultur intraperitoneal, das andere mit $^{1}/_{10}$ Öse Kultur subcutan und das dritte mit $^{1}/_{10}$ Öse Kultur intravaginal geimpft.

Das erste dieser Tiere abortierte am 3. und die beiden anderen am 5. Tage nach der Infektion. In allen 3 Fällen waren die Jungen tot. Die kulturelle Untersuchung der ausgestoßenen Früchte und der Organe der unmittelbar nach dem Verwerfen getöteten 3 Meerschweinchen ergab das Vorhandensein paratyphusähnlicher Bakterien, die in 2 Fällen in Reinkulturen erhalten werden konnten und im 3. Fall mit Bacterium coli vermischt waren.

3. Versuche an trächtigen Ratten.

Von 2 Ratten, von denen die eine mit $^{1}/_{20}$ Öse Kultur intraperitoneal, die andere mit $^{1}/_{10}$ Öse Kultur subcutan geimpft worden waren, verwarf die erstere nach 20 Stunden und starb am 2. Tage, während die andere nach 2 Tagen abortierte und am 3. Tage nach der Impfung verendete.

Zwei weitere Ratten, denen die Abschwemmung einer Agarkultur mit dem Futter verabreicht worden war, haben beide 6 Tage später verworfen. Die eine starb

einen Tag nach erfolgtem Abortus, die andere wurde einen Tag nach dem Verwerfen getötet.

Sowohl aus den verworfenen Früchten der 4 Ratten, als auch aus ihren inneren Organen konnten, wie bei den mit Kultur geimpften Kaninchen und Meerschweinchen, die paratyphusähnlichen Bakterien gezüchtet werden. Aus der subcutan geimpften und aus der infolge Fütterungsinfektion gestorbenen Ratte konnten wiederum Reinkulturen dieser Bakterien gewonnen werden.

Aus diesen Versuchen geht somit hervor, daß alle mit Reinkultur der paratyphusähnlichen Bakterien intravenös, intraperitoneal, subcutan und intravaginal geimpften sowie die mit Kulturmaterial gefütterten trächtigen Versuchstiere 1 bis 6 Tage nach der Infektion verworfen haben.

Ferner ergaben die Versuche, daß aus den ausgestoßenen Früchten und den inneren Organen der nach dem Verwerfen getöteten oder verendeten Tiere jedesmal paratyphusähnliche Bakterien und zwar mehrfach in Reinkulturen gezüchtet werden konnten.

Im folgenden wird das Aussehen und das kulturelle Verhalten dieser Bakterien näher beschrieben.

Eigenschaften der paratyphusähnlichen Bakterien.

Die Eigenschaften der in Fällen von seuchenhaftem Verfohlen aus dem Untersuchungsmaterial gezüchteten Vertreter der Paratyphus-Enteritisgruppe waren nicht immer konstant und bei den einzelnen Stämmen öfters verschieden.

Immerhin konnte häufig ein Typus unterschieden werden, der die nachstehend beschriebenen Merkmale besaß.

Morphologische Eigenschaften.

Die Ausstriche zeigen ein kurzes, ovoides, dickes Stäbchen mit stark abgerundeten Enden.

Die Länge schwankt zwischen 0,6 und 3 μ und die Dicke beträgt im Mittel 0,6 μ.

Im hängenden Tropfen aus Bouillonkultur lassen die Stäbchen eine lebhafte Eigenbewegung erkennen.

Kettenbildung, Fadenbildung und Sporen wurden nicht beobachtet.

Die Färbung der Stäbchen gelingt leicht mit den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen. Die Bakterien sind nicht säurefest und färben sich nicht nach Gram. Die in Ausstrichen aus dem Untersuchungsmaterial sich findenden und die frisch isolierten Bakterien zeigen Neigung zu bipolarer Färbung, die bei der Weiterzüchtung bald verloren geht.

Kulturelles Verhalten.

Die Bakterien wachsen auf Gelatine nicht besonders gut. Die Kolonien werden für das unbewaffnete Auge nach 2 Tagen eben sichtbar. Gelatinekulturen bieten im allgemeinen nichts Charakteristisches. Der Nährboden wird nicht verflüssigt.

Auf Agarplatten erscheinen die oberflächlichen Kolonien als flache, rundliche, grauweiße, durchscheinende Scheiben mit mehr oder weniger deutlich sichtbaren kon-

zentrischen Ringen. Sie bekommen schließlich einen Durchmesser von 4—5 mm und zeigen bei schwacher Vergrößerung eine feine Granulation, die in der Mitte dicht, am Rande dagegen weniger dicht ist. Der Rand ist meist kreisrund, selten leicht gekerbt und etwas wulstig erhaben.

In Agarstrichkulturen sieht man 24 Stunden nach der Beimpfung einen grauweißen glänzenden Rasen, der nach 48 Stunden ganz leicht gefältelt oder gerunzelt erscheint, Neigung zu Häutchenbildung besitzt und sich in der Folge zu einem trockenen, spröden, hautartigen, im Zusammenhang abhebbaren Belag entwickelt, der dem Nährboden ziemlich fest anhaftet und sich nur schwer abimpfen läßt. Das Kondenswasser ist getrübt und mit einem dünnen Häutchen bedeckt.

In Bouillon tritt eine gleichmäßige Trübung ein und auf der Oberfläche des Nährbodens entsteht ein dickes, bläulich weißes Häutchen, das bei längerem Wachstum zu Boden sinkt und an der Oberfläche von neuem sich bildet.

Milch wird nicht koaguliert. Sie nimmt bei längerem Wachstum unter Bildung von Alkali eine gelbliche Farbe an und wird durchscheinend.

Traubenzucker wird vergärt.

Auf der Drigalskiplatte ist das Wachstum gut. Die Drigalskiplatte ist zur Untersuchung des Materials von seuchenhaftem Verfohlen vorzüglich geeignet und kaum zu entbehren, da sie die Reinzüchtung sehr erleichtert. Die Farbe des Nährbodens wird nicht verändert. Am ersten Tage nach der Beimpfung sind zahlreiche kleine, glänzende Kolonien sichtbar, die dem Nährboden ein betautes Aussehen verleihen und in den folgenden Tagen zu größeren runden, trockenen Scheiben heranwachsen, die leicht gekörnt erscheinen. In der Mitte sind sie etwas höher als am Rande und zeigen eine dellenförmige Vertiefung. Der Rand ist wulstig, rund, durch eine schmale, tieferliegende, ringförmige Randzone von der zentralen Delle getrennt.

Im übrigen gleicht das Wachstum auf den anderen zur Differenzierung der Bakterien aus der Coli-Typhus-Paratyphusgruppe dienenden Nährböden ganz dem des Bacillus paratyphosus B.

Zum Nachweis, ob die Bakterien, die aus den mit Kultur geimpften Tieren und ihren verworfenen Früchten gezüchtet werden konnten, mit den zur Infektion benutzten, aus dem eingesandten Untersuchungsmaterial von seuchenhaftem Verfohlen isolierten Paratyphusbacillen identisch waren, wurde eine Reihe serologischer Untersuchungen angestellt.

Serologische Untersuchungen.

Im ganzen konnten aus dem eingesandten Material 42 Paratyphusstämme gezüchtet werden.

Zur Prüfung, ob im Blute der Stuten, die verfohlt hatten, spezifische Antikörper für diese Paratyphusbacillen nachzuweisen sind, wurden mit dem Serum von solchen Stuten Agglutinations- und Komplementbindungsversuche angestellt.

Es standen mir hierzu, da nur 33 Blutproben eingeschickt wurden, nicht für alle 42 Stämme die entsprechenden Blutproben zur Verfügung.

1. Agglutination.

Zur Agglutination wurden in der Regel 24 bis 48 stündige Schrägagarkulturen benutzt, die je nach der Stärke des Wachstums der Bakterien mit 2 bis 3 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und bis zur gleichmäßigen Verteilung kräftig durchgeschüttelt wurden. Ältere Kulturen zur Agglutination zu verwenden, ist nicht ratsam, da sie meistens stark krümeln, infolgedessen schwerer in Kochsalzlösung gleichmäßig zu emulgieren sind und leicht sedimentieren.

Die Ergebnisse der Agglutinationsversuche sind in der Tabelle (S. 124 u. 125) zusammengefaßt.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß die aus dem Untersuchungsmaterial gezüchteten Bekterienstämme von dem homologen Serum der Mutterstuten agglutiniert werden. Der Agglutinationstiter des Serums liegt meist zwischen einer Serumverdünnung von 1 : 800 bis 1 : 1000. Bei den Kontrollproben, die mit den gleichen Bakterienstämmen und normalem Pferdeserum angestellt worden sind, war eine vollständige Agglutination bei 1 : 80 bis 1 : 100 der Serumverdünnung erfolgt.

Die Agglutinationsversuche, die mit dem Serum der künstlich infizierten und später getöteten Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten und den zur Infektion benutzten Stämmen angestellt wurden, lieferten ähnliche Ergebnisse nur mit dem Unterschiede, daß die Titergrenze des Serums meistens in einer höheren Verdünnung zwischen 1 : 2000 bis 1 : 6000 lag.

Mit dem Serum der eingesandten verworfenen Fohlen konnte dagegen eine Agglutination in keinem einzigen Falle erzielt werden.

Aus den Ergebnissen der Agglutinationsversuche kann demnach geschlossen werden, daß das Serum der Stuten, die verfohlt haben, und das Serum von trächtigen Versuchstieren, die infolge künstlicher Infektion mit den aus den verworfenen Fohlen gezüchteten Bakterien ebenfalls abortiert haben, spezifische, auf diese Bakterien eingestellte Agglutinine enthält.

2. Komplementbindung.

Als Antigene wurden zur Komplementbindung mehrere auf verschiedene Weise hergestellten Bacillenextrakte benutzt. Ferner wurde, jedoch ohne Erfolg versucht, Bauchhöhlenflüssigkeit und Fruchtwasser von abortierten Fohlen als Antigene zu verwenden.

Nach erfolgter Vorprüfung wurden die Antigene vor ihrer Benutzung zur Komplementablenkung mit Stutenserum in einem Vorversuche auf ihre Brauchbarkeit geprüft. Bei diesem Vorversuch wurden 2 Versuchsreihen angesetzt und zwar die eine mit Normalserum vom Kaninchen, die andere mit einem künstlich hergestellten polyvalenten Kaninchenserum, das einen Agglutinationstiter von 1 : 1000 hatte.

Als gut brauchbar haben sich hierbei Extrakte erwiesen, die folgendermaßen hergestellt waren. Gut gewachsene mehrere Tage alte Schrägagarkulturen wurden mit 5 ccm 0,85 % mit 0,5 % Karbolsäure versetzter Kochsalzlösung abgeschwemmt, 48 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt und hernach bis zur völligen Klarheit zentrifugiert.

Tabelle I. Agglutination von 33 Stämmen

Bezeichnung der einzelnen Bakterienstämme	Verdünnungen des Serums					
	1 : 50	100	200	300	400	500
Bare	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Carola	+++	+++	+++	+++	+++	++
Stamm B.	+++	+++	+++	+++	+++	+++
„ D.	+++	+++	+++	+++	++	++
„ Rh.	+++	+++	+++	+++	++	++
„ Sch.	+++	+++	+++	++	+	±
„ N.	+++	+++	+++	++	+	±
Hofnärrin	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ackerblume	+++	+++	+++	++	++	++
Tränenmädel	+++	+++	+++	++	++	++
Cimbal	+++	+++	+++	+++	++	++
Heckenrose	+++	+++	+++	++	+	+
Lanze	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Edelmeise	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Isabelle	+++	+++	+++	+++	+++	++
Teilnahme	+++	+++	+++	+++	++	++
Herzeloide	+++	+++	+++	+++	++	++
Troja	+++	+++	+++	+++	++	++
Pfote	+++	+++	+++	+++	++	++
Cameliendame	+++	+++	+++	+++	++	+
Eisenbraut	+++	+++	+++	+++	++	+
Stamm Nr. 23	+++	+++	+++	+++	++	+
„ „ 25	+++	+++	+++	++	++	+
„ „ 26	+++	+++	++	++	+	+
„ Gr.	+++	+++	+++	++	++	+
„ Nr. 27	+++	+++	+++	++	++	+
„ „ 30	+++	+++	+++	+++	++	++
„ „ 33	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ „ 34	+++	+++	++	+	+	+
„ „ 37	+++	+++	+++	+++	+++	++
„ „ 38	+++	+++	+++	+++	++	++
„ „ 39	+++	+++	++	++	++	+
„ „ 40	+++	+++	+++	++	++	++

Anmerkung: Die Zeichen +++, ++, + bedeuten die verschiedenen Grade der positiven Agglutination, und zwar bedeutet:

+++ vollständiger Niederschlag und Klärung der Flüssigkeit,

Ein guter Extrakt konnte auch aus 3 Tage alter Glycerinbouillonkultur gewonnen werden, die mit 0,5% Karbolsäure versetzt, ebenfalls 48 Stunden lang geschüttelt und dann bis zur völligen Klarheit zentrifugiert worden war.

Die auf diese Weise bereiteten Antigene wirkten, wie die Vorversuche ergaben, in Mengen von 0,5 für sich allein weder komplementbindend noch hämolysierend.

Die übrigen auf andere Weise hergestellten Extrakte waren, wenn sie gleich dieser Anforderung genügten, meist nicht für die Komplementbindung geeignet.

mit den homologen Stutenseren.

der Mutterstuten

600	800	1000	2000	4000	6000	8000	10 000	20 000
++	+	±	±	±	—	—	—	—
++	+	+	±	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	±	—	—	—	—	—	—	—
++	+	±	—	—	—	—	—	—
±	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
++	+	+	±	±	±	±	—	—
+	±	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	±	—	—	—	—	—	—	—
+++	++	+	±	±	±	±	—	—
+++	++	+	±	—	—	—	—	—
++	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	—	—	—	—	—	—
+	+	±	—	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	+	±	—	—	—	—	—
+	±	±	—	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	—	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	±	±	—	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
++	+	+	±	±	±	±	±	—
±	±	±	—	—	—	—	—	—
++	+	+	+	±	±	±	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—
+	+	±	—	—	—	—	—	—
+	+	±	±	—	—	—	—	—

++ teilweiser Niederschlag mit vollständiger Ausflockung,
+ teilweiser Niederschlag mit feiner Ausflockung.
Die Zeichen ± und — bedeuten eine zweifelhafte und negative Agglutination.

Von den eingesandten Blutproben wurde ein Teil des frischen Serums zur Agglutination benutzt, ein anderer Teil mit 0,5 % Karbolsäure versetzt zur Aufbewahrung gestellt und der Rest in frischem Zustand bei 56° C im Wasserbad inaktiviert und als Antiserum zur Komplementbindung benutzt.

Sämtliche der geprüften Seren genügten der an sie gestellten Anforderung, in Mengen von 0,2 ccm für sich allein nicht Komplement zu binden und nicht hämolytisch zu wirken.

Als Komplement diente in allen Fällen frisches Meerschweinchenserum.

Als Amboceptor stand zu den Versuchen ein hämolytisches Kaninchenserum vom Titer 1 : 4000 zur Verfügung.

Die Schafblutkörperchen wurden zur Komplementbindung in einer 5 % Aufschwemmung in 0,85 % Kochsalzlösung benutzt.

Vor Anstellung des eigentlichen Komplementbindungsversuchs erfolgte jedesmal die Einstellung des Komplements und des Amboceptors zur Ermittelung der für den Hauptversuch notwendigen Mengen Komplements und hämolytischen Serums. Sodann wurde die Vorprüfung und die Einstellung des Antigens zur Festsetzung der nötigen Antigenmenge und endlich die Vorprüfung des Antiserums vorgenommen.

Im Anschlusse hieran erfolgte der Ablenkungsversuch mit dem zu prüfenden Serum, der in der nachstehenden Tabelle veranschaulicht ist.

Tabelle II. Ablenkungsversuch mit einem Stutenserum.

Stutenserum	Antigen (1 : 10)	Komplement (1 : 10)		Ambozeptor (Tit. 1 : 4000) 1 : 2000	Schafblutkörperchen		Ergebnis
0,3 ccm	0,3 ccm	0,25 ccm	1 Stunde bei 37° C	1 ccm	1 ccm	2 Stunden bei 37° C	Hemmung
0,2 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		„
0,1 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		„
0,05 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		„
0,02 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		unvollst. Hemmung
0,01 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		Lösung
0,005 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		„
0,002 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		„
0,001 „	0,3 „	0,25 „		1 „	1 „		„
Kontrollen:							
0,3 ccm	—	0,25 „		1 „	1 „		„
—	0,3 ccm	0,25 „		1 „	1 „		„

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß bis zur Menge von 0,05 ccm des Serums eine vollständige Bindung eingetreten ist. Dieses Ergebnis war jedoch nur in 2 Fällen, nämlich mit den Antigenen der Stämme „Lanze“ und „Troja“ und den homologen Seren der betreffenden Mutterstuten zu verzeichnen. In den übrigen Fällen, in denen nicht immer die den Seren homologen Antigene verwendet wurden, konnten nur 8 mal spezifische Antikörper im Serum bis zur Menge von 0,1 ccm des Serums festgestellt werden. Bei normalen Seren konnte in einigen wenigen Fällen eine unvollständige Hemmung höchstens bis zur Menge von 0,2 ccm beobachtet werden.

Die Komplementbindungsversuche, die mit Seren trächtiger Kaninchen angestellt wurden, die infolge künstlicher Infektion mit den Pferde-Abortusstämmen verworfen hatten, führten zu keinen positiven Ergebnissen.

Desgleichen konnte in keinem Falle mit den Seren der abortierten Fohlen eine Komplementbindung erzielt werden.

Aus den Komplementbindungsversuchen geht somit hervor, daß das Serum von Stuten, die verfohlt haben, Amboceptoren 3. Ordnung enthält.

Der **Gehalt des Serums** an solchen spezifischen Antikörpern ist jedoch ein geringer und ihr Nachweis gelingt nicht mit den Antigenen aller Stämme.

Die von mir festgestellten Beobachtungen über die Komplementbindung in Fällen von seuchenhaftem Verfohlen stimmen bis zu einem gewissen Punkt mit den Erfahrungen überein, die hierüber von anderer Seite gesammelt worden sind. So konnte van Heelsbergen in keinem einzigen Falle komplementbindende Antikörper im Blute von Stuten finden, die mit seuchenhaftem Verfohlen behaftet waren, und Lautenbach konnte nur in einem Falle eine zweifelhafte Bindung nachweisen.

Der Grund des völligen Versagens der Komplementbindungsmethode ist sicherlich nicht in einer fehlerhaften Versuchsanordnung zu suchen. Vielmehr liegt die Ursache nach meiner Ansicht wahrscheinlich in der Verschiedenheit der in den einzelnen Fällen gezüchteten Bakterienstämme und der aus ihnen hergestellten Antigene.

Erfahrungsgemäß vermögen kleinere Unterschiede, wie sie zwischen den Bakterien eines bestimmten Typus zuweilen beobachtet werden, die Ergebnisse der serologischen Untersuchung bis zu einem gewissen Grade zu beeinflussen. Bei den von mir in Fällen seuchenhaften Verfohlens gezüchteten Vertretern der Paratyphusgruppe waren indessen die Unterschiede, wie die weiteren Ausführungen zeigen werden, mitunter so weitgehend, daß von einem einheitlichen, scharf abgegrenzten Typus gar nicht mehr die Rede sein kann.

Verschiedenheiten der einzelnen Stämme.

Schon von Anfang meiner Untersuchungen an wurde mir wiederholt Veranlassung geboten, der Frage näher zu treten, ob man es bei den Paratyphusbacillen als Erregern von seuchenhaftem Verfohlen überhaupt mit einem einheitlichen Typus zu tun hat.

Im Laufe der Versuche konnte ich des öfteren beobachten, daß verschiedene der allgemein als charakteristisch angesehenen Eigenschaften der Bacillen, die das Aussehen der Kolonien, die Häutchenbildung in Agar- und auf der Oberfläche der Bouillonkulturen betrafen, bei einigen Stämmen im Verlauf der Weiterzüchtung sich beinahe verloren haben. Ferner habe ich in mehreren Fällen aus dem Untersuchungsmaterial Bakterien züchten können, die diese Eigenschaften von vornherein nicht besaßen, und deren Kolonien in ihrem Aussehen ganz denen der typischen Vertreter der Paratyphus-Enteritisgruppe glichen.

Des weiteren konnte ich im agglutinablen Verhalten der einzelnen Stämme, wie aus den nachstehenden Versuchen hervorgeht, oft die weitgehendsten Schwankungen feststellen.

Agglutinationsversuche mit homologem und heterologem Serum.

Zur Feststellung der Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen und ihren Beziehungen zu einigen typischen Vertretern der Paratyphus-Enteritisgruppe wurden Agglutinationsversuche mit verschiedenen Seren angestellt.

Ich benutzte zu diesen Versuchen 9 verschiedene agglutinierende Seren und zwar:

1. Homologes, polyvalentes Serum, das durch Immunisierung eines Kaninchens mit 5 verschiedenen, aus verworfenen Fohlen gezüchteten Paratyphusstämmen gewonnen wurde.

2. Paratyphus A-Serum mit dem Titer 1 : 4000, das durch Behandlung einer Ziege mit einem menschlichen Paratyphusstamm erhalten wurde.

3. Gärtnerserum mit dem Titer 1 : 20000 von einer mit dem Originalstamm des Bac. enteritidis Gärtner immunisierten Ziege stammend.

4. Paratyphus B-Serum mit dem Titer 1 : 10000 von einer Ziege, das durch Immunisierung mit dem Bac. paratyphus B „Lentz" erhalten wurde.

5. Mäusetyphus-Serum mit dem Titer 1 : 8000 von einer mit dem „Löfflerschen" Originalstamm des Bac. typhi murium behandelten Ziege.

6. Suipestifer-Serum mit dem Titer 1 : 8000 von einem mit dem Bac. suipestifer immunisierten Kaninchen.

7. Voldagsen-Serum mit dem Titer 1 : 8000 von einer mit dem Schweine-Paratyphusstamm „Bac. Voldagsen" behandelten Ziege.

8. Glässer-Serum mit dem Titer 1 : 6000 von einem mit dem Schweine-Paratyphusstamm „Glässer" behandelten Kaninchen.

9. Polyvalentes Paracoli-Serum mit dem Titer 1 : 4000 von einem mit verschiedenen Kälberruhrstämmen immunisierten Rind stammend.

Die Ergebnisse der Agglutinationsversuche mit den genannten Seren und 33 Pferde-Paratyphusstämmen von Fällen seuchenhaften Verfohlens sind in der Tabelle III (Seite 129) zusammengestellt.

Die Vergleichung der einzelnen Ergebnisse der Agglutinationsversuche zeigt, daß die meisten der bei seuchenhaftem Verfohlen gefundenen paratyphusähnlichen Stämme von dem homologen Serum am höchsten, jedoch nicht alle gleich hoch agglutiniert wurden. Eine Ausnahme hiervon bilden einige Stämme, deren serologisches Verhalten besonders zu beachten ist. Der Stamm Nr. 37 und der Stamm „Eisenbraut" wurden durch das homologe Abortusserum, das durch Immunisierung mit den Stämmen „B", „Heckenrose", „Lanze", „Troja" und „30" gewonnen worden ist, nur bis zu einer Serumverdünnung von 1 : 600 und 1 : 200, von Paratyphus B-Serum dagegen bis 1 : 800 agglutiniert. Ähnlich verhielten sich noch 3 weitere von den 9 übrigen, in der Tabelle nicht aufgeführten Stämmen.

Ferner konnte aus einem Fall von seuchenhaftem Verfohlen ein Stamm „Pfote" gezüchtet werden, der von dem Abortusserum in einer Verdünnung 1 : 400, von Gärtnerserum dagegen bis zur Titergrenze 1 : 20000 vollständig agglutiniert wurde. Letzterer Stamm war für kleinere Versuchstiere hochpathogen. Durch künstliche Infektion mit diesem Stamm konnte das Verwerfen stets erzeugt werden und die infizierten Versuchstiere gingen regelmäßig kurze Zeit nach erfolgtem Abortus ein.

Versuche, die ich in umgekehrter Richtung mit Stutenserum und den verschiedensten Vertretern aus der Paratyphus-Enteritisgruppe vornahm, haben ebenfalls oft erheblich abweichende Ergebnisse geliefert. In Übereinstimmung mit van Heelsbergen konnte ich in 2 Fällen eine deutliche Beeinflussung des Bacillus typhi murium „Löffler" durch Stutenserum feststellen, das in einer Verdünnung von 1 : 800

Tabelle III. Agglutination von 33 der gezüchteten Stämme mit homologem und heterologem Serum.

Bezeichnung der Pferdeabortus-Stämme	Polyvalentes Pferdeabortusserum vom Kaninchen Titer 1:10000	Paratyph. A.-Serum (menschl. Stamm) 1:4000	Gärtner-Serum (menschl. Gärtner-Stamm) 1:20000	Paratyph.-B.-Serum (menschl. Stamm) 1:10000	Mäusetyph.-Serum (Orig.-Stamm) 1:800	Suipestifer-Serum 1:8000	Voldagsen-Serum 1:8000	Glässer-Serum 1:6000	Paracoli-Serum (Rinderstamm) 1:4000
Bare	1: 6000	—	1: 100 + 1: 200 +	1: 200	1:100	1:100	1:20	—	1:50
Carola . . .	1: 4000 + 1:10000 ±	—	1: 50	1: 100	1:100	1:400	1:20	—	1:80
Stamm B. . .	1: 8000	—	1: 50	1: 100	1: 80	1:300	1:40	—	1:20
„ D. . .	1: 800 + 1: 2000 ±	—	1: 80	1: 200 + 1: 600 ±	1:100	1: 80	—	—	—
„ Rh. . .	1: 5000	—	1: 50	1: 300	1: 80	1:100	—	—	—
„ Sch. . .	1: 4000 + 1: 8000 ±	—	1: 100	1: 100	1: 50	1: 80	1:20	—	—
„ N. . .	1: 2000	1:20	1: 100	1: 800 + 1:4000 ±	1:100	1: 50	1:40	—	1:20
Hofnärrin . .	1: 2000 + 1: 6000 ±	—	1: 80	1: 200	1: 50	1: 50	—	1:20	1:50
Ackerblume .	1: 4000	—	1: 80 + 1: 300 ±	1: 400	1: 60	1:100	—	—	—
Tränenmädel .	1: 8000	1:50	1: 50	1: 200	1: 50	1:200	—	—	—
Cimbal . . .	1: 6000	1:50	1: 50	1: 400 + 1: 800 ±	1: 80	1:200	—	—	—
Heckenrose .	1: 8000	1:20	1: 20	1: 100	1:100	1: 80	1:50	1:50	—
Lanze . . .	1: 5000 + 1:10000 ±	—	1: 80	1: 200	1: 50	1:200	1:50	—	—
Edelmeise . .	1: 4000	1:50	1: 50	1: 200	1:100	1: 80	1:20	—	1:80
Isabelle . . .	1: 2000	1:20	1: 100	1: 800 + 1:1000 ±	1:200	1: 80	—	1:50	1:50
Teilnahme . .	1: 1000 + 1: 2000 ±	—	1: 80	1: 200	1:100	1: 80	—	1:20	1:50
Herzeloide . .	1: 2000	—	1: 50	1: 100	1:100	1:200	—	1:20	1:50
Troja . . .	1: 8000	—	1: 80	1: 200	1:100	1:100	—	—	1:20
Pfote . . .	1: 400 + 1: 1000 ±	—	1:20000	1: 200 + 1: 600 +	1:100	1: 80	—	—	1:80
Cameliendame	1: 5000	1:20	1: 50	1: 400 + 1:4000 ±	1:100	1:100	1:20	1:20	—
Eisenbraut .	1: 600	1:20	1: 50	1: 800 + 1:4000 ±	1:200	1: 80	1:50	1:50	1:50
Stamm Nr. 23	1: 4000	—	1: 100	1: 100	1: 80	1:400	1:20	1:40	1:50
„ „ 25	1: 8000	—	1: 80	1: 100	1: 80	1:200	1:50	1:20	—
„ „ 26	1: 2000	—	1: 100	1: 800	1:200	1:100	1:20	1:20	—
„ Gr. .	1: 5000	—	1: 50	1: 100	1: 80	1:100	1:20	1:20	1:80
„ Nr. 27	1: 2000	—	1: 50	1: 600	1:100	1:100	—	—	1:100
„ „ 30	1: 8000	—	1: 50	1: 400	1:100	1:200	—	1:50	1:20
„ „ 33	1: 3000	—	1: 100	1: 200	1: 80	1:100	—	1:20	—
„ „ 34	1: 3000	—	1: 60	1: 300	1: 50	1:200	1:20	—	—
„ „ 37	1: 200 + 1: 500 ±	—	1: 80	1: 800 + 1:2000 ±	1:100	1: 80	1:50	1:40	—
„ „ 38	1: 6000	1:50	1: 80	1: 200	1: 60	1:300	1:80	1:20	—
„ „ 39	1: 4000	1:20	1: 50	1: 300	1: 50	1:100	1:20	—	1:50
„ „ 40	1: 5000	—	1: 60	1: 200	1: 80	1:200	—	1:50	1:50

Anmerkung: In Fällen, wo zwei Zahlen angegeben sind, bedeutet die erste die höchste positive (+), die zweite die höchste undeutliche Agglutination.

diesen Originalstamm agglutinierte. In anderen Fällen agglutinierte das Stutenserum in einer Verdünnung 1 : 100 bis 1 : 300 andere Bakterien aus der Paratyphus-Enteritisgruppe. Da jedoch auch mit normalen Seren von Pferden geringgradige Agglutinationen dieser Bakterien beobachtet wurden, so können aus diesen letzteren Ergebnissen keine sicheren Schlüsse abgeleitet werden.

Die vergleichenden Agglutinationsversuche, die mit den in Fällen von seuchenhaftem Verfohlen gezüchteten Paratyphusbacillen und mit verschiedenen agglutinierenden Seren von typischen Vertretern der Paratyphus-Enteritisgruppe angestellt wurden, haben demnach ergeben, daß die einzelnen Pferdeabortusstämme öfters erhebliche Unterschiede in ihrem serologischen Verhalten erkennen lassen.

Aber nicht nur in kultureller und serologischer Hinsicht weisen die bei seuchenhaftem Abortus der Stuten gefundenen Paratyphus-Stämme Verschiedenheiten auf, sondern auch in ihrer Pathogenität kleineren Versuchstieren gegenüber.

Unterschiede in der Pathogenität der einzelnen Stämme.

Die Pathogenität der bei seuchenhaftem Abortus der Stuten gezüchteten Paratyphusbacillen kann erheblich wechseln. Weitaus die meisten Stämme sind für weiße Mäuse pathogen. Weiße Ratten sind ebenfalls wenig widerstandsfähig gegen eine Infektion mit diesen Bakterien. Trächtige Ratten, die sich ganz besonders gut zu Infektionsversuchen eignen, verwerfen meistens schon in den auf die Infektion folgenden beiden nächsten Tagen und verenden einige Tage später. Meerschweinchen und namentlich Kaninchen überstehen eine künstliche Infektion besser als Mäuse und Ratten.

Wenngleich mit den bei seuchenhaftem Verfohlen vorkommenden Paratyphusbacillen das Verwerfen bei kleineren Versuchstieren regelmäßig hervorgerufen werden konnte, so bestanden doch Unterschiede in ihrer Pathogenität, die darin ihren Ausdruck fanden, daß ein Teil der Stämme stets tödlich, ein anderer Teil nur bedingt tödlich oder überhaupt nicht tödlich wirkte.

Zusammenfassung.

Aus den angestellten Untersuchungen kann geschlossen werden, daß die von mir in Fällen von seuchenhaftem Abortus der Stuten in dem Untersuchungsmaterial gefundenen Bakterien aus der Paratyphus-Enteritisgruppe in der Tat das Verwerfen verursacht hatten.

Die in der neueren Literatur vertretene Ansicht, daß der seuchenhafte Abortus der Stuten auf keiner einheitlichen ätiologischen Grundlage beruht, wird somit durch meine Untersuchungen bestätigt.

Ostertag hat in früheren Jahren regelmäßig einen Streptokokkus als Erreger des seuchenhaften Verfohlens nachgewiesen. Die Untersuchungen, die in Deutschland und anderen Ländern während der Seuchengänge der letzten Jahre von verschiedenen Seiten angestellt worden sind, lassen jedoch keinen Zweifel mehr darüber, daß außer

dem von Ostertag gefundenen Streptokokkus auch noch andere Bakterien und zwar aus der Paratyphus-Enteritisgruppe den seuchenhaften Abortus der Stuten verursachen.

Die Frage über die Stellung der bei seuchenhaftem Verfohlen gefundenen Paratyphusbacillen zu den typischen Vertretern der Paratyphus-Enteritisgruppe ist noch nicht hinreichend geklärt. Die meisten Autoren sind geneigt, sie als eine besondere Untergruppe der letzteren zu betrachten. Meine Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß die in Fällen von seuchenhaftem Verfohlen gezüchteten Paratyphusstämme keinen einheitlichen Charakter tragen, sondern erhebliche Unterschiede namentlich in ihrem kulturellen und serologischen Verhalten zeigen, die eine Zusammenfassung zu einem besonderen Typus nicht gestatten.

Da die von mir untersuchten Fälle von seuchenhaftem Verfohlen, wie aus dem Vorbericht zu entnehmen ist, im Anschluß an eine in den gleichen Pferdebeständen herrschenden Fohlenruhrepidemie aufgetreten sind, so erhebt sich die Frage, ob die bei seuchenhaftem Abortus der Stuten gefundenen Paratyphusbacillen nicht vielleicht gleichzeitig in einer ursächlichen Beziehung zur Fohlenruhr stehen. Nach den Beobachtungen von Mießner, der die beschriebenen Bakterien auch bei Fohlen nachgewiesen hat, die an ruhrähnlichen Erscheinungen verendet waren, scheint diese Annahme in der Tat eine gewisse Berechtigung zu haben. Wäre dies der Fall, und würden die Verhältnisse bei der Fohlenruhr ähnliche sein wie bei der Kälberruhr, die bekanntlich durch verschiedene Bakterien der Coli-Paratyphus-Enteritisgruppe hervorgerufen wird, so würden damit auch die von mir festgestellten Verschiedenheiten der in Fällen von seuchenhaftem Verfohlen gezüchteten Paratyphusstämme ihre Erklärung finden.

Von besonderer Wichtigkeit ist die beobachtete Verschiedenheit der Stämme für eine in einem Bestand etwa vorzunehmende Immunisierung gegen das seuchenhafte Verfohlen.

Schlußsätze.

1. In den von mir untersuchten Fällen von seuchenhaftem Verfohlen konnten Bakterien aus der Gruppe der Paratyphus-Enteritisbacillen als Erreger des Verwerfens festgestellt werden.

2. Mit Rücksicht darauf, daß die aus dem Untersuchungsmaterial gezüchteten Stämme dieser Bakterien erhebliche Unterschiede in ihrem kulturellen, serologischen und pathogenen Verhalten zeigten und außer dem am häufigsten gefundenen Smith-Kilbornschen Bacillus ein typischer Bacillus enteritidis Gärtner, sowie mehrere dem Bacillus paratyphosus B nahestehende Bakterien nachgewiesen wurden, ist ihre Zusammenfassung zu einem einheitlichen Typus nicht angängig.

3. Im Serum der Stuten, die verfohlt hatten, konnten durch die Agglutination und öfters auch durch die Komplementbindung spezifische Antikörper nachgewiesen werden.

4. Bei kleineren Versuchstieren kann Verwerfen sowohl durch intravenöse, intraperitoneale und subkutane Impfung als auch durch Fütterung mit Reinkulturen der gefundenen Bakterien künstlich erzeugt werden.

Literaturverzeichnis.

Bang, B., Zeitschr. f. Tiermedizin Bd. I, S. 241—278. 1897.

Derselbe, Arch. f. wissenschaftl. und praktische Tierheilkunde Bd. 33, Heft 3, S. 312 bis 326. 1907.

Biot, Récueil de méd. vétérinaire Bd. III, S. 213. 1886.

Bouley, Dictionnaire pratique de méd. de chirurg. et d'hygiène vétérinaire. Bd. II, S. 314.

Derselbe, Récueil de méd. vét. Bd. II, S. 714. 1875.

Dassonville et Rivière, Rev. génér. de méd. vét. S. 237 u. 301. 1913.

Flandrin, Instructions et observations sur les maladies des animaux domestiques Bd. VI, S. 107—163. 1806.

Gsell, Bulletin de la Société centrale de méd. vétérinaire S. 163. 1887.

Guillerey, Archiv für wissenschaftl. und praktische Tierheilkunde 29. Band, S. 37 bis 67. 1903.

van Heelsbergen, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 72, Heft 1/2, S. 38—69. 1914.

Hering, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere 3. Aufl., 1858, S. 690.

de Jong, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 67, S. 148, 1912.

Kilborne, U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. Industr. Bull. Nr. 3. Washington 1893, S. 49.

Lautenbach, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 71, Heft 5/7, S. 349—377. 1913.

Lignières, Récueil de méd. vét. 1905, S. 457.

Meyer und Boerner, The Journal of Medical Research Volume XXIX, S. 325—366.

Mießner und Berge, Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 25. Jahrg. 1917, Nr. 2, S. 9—13.

Ostertag, Monatshefte für praktische Tierheilkunde. 12. Band, S. 385—404. 1901.

Saint-Cyr, Traité d'obstétrique. 1875, S. 217—228 und 1888, S. 314 u. S. 1174.

Schule, Monatshefte f. praktische Tierheilkunde. 12. Bd., S. 337—367. 1901.

Smith, U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. Industr. Bull. Nr. 3, Washington 1893, S. 53.

Turner, Americ. Veterin. Rev. Vol. 17. 1893.

Zeh, Berliner Tierärztl. Wochenschr. 31. Jahrg. 1915, Nr. 27, S. 313—315.

Zündel, Réqueil de méd. vét. 1871, S. 465.

Untersuchungen über das serologische Verhalten verschiedener Amöbenstämme.

Von

Dr. W. von Schuckmann,

wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

I. Einleitung und Literatur.

Das in der Bakteriologie benutzte Verfahren zur Isolierung und künstlichen Fortzüchtung von Bakterien auf festen, durchsichtigen Nährböden wurde für die Gewinnung von Amöbenkulturen zuerst von Celli und Fiocca (1894) in Anwendung gebracht, und zwar verwandten diese Autoren als Nährboden eine aus Fucus crispus hergestellte Gallerte, während Agar-Agar zuerst bei den von Beijerinck (1896) mit Amöben angestellten Züchtungsversuchen als Nährboden zur Anwendung kam. Allerdings handelte es sich bei all diesen Kulturen nicht um ausschließliche Reinkulturen von Amöben, sondern um Mischkulturen von solchen mit verschiedenen Bakterien, deren die Kulturamöben zu ihrer Ernährung bedürfen, weil sie die für ihr Wachstum und ihre Vermehrung erforderlichen Nährstoffe nicht wie die Bakterien dem künstlichen Nährboden entnehmen können, sondern darauf angewiesen sind, „geformte Nahrungsstoffe" in Gestalt von Bakterien oder anderen Mikroorganismen (Algen, Protozoen) in sich aufzunehmen und zu verdauen. Den sicheren Nachweis, daß Amöben sich nicht in „absoluter Reinkultur" züchten lassen, erbrachte Frosch (1897), dem zuerst die Befreiung der Amöbencysten von den ihnen äußerlich anhaftenden Bakterien und die Isolierung einzelner Amöbencysten zwecks Gewinnung sog. „Einzell-Kulturen" gelang. In der Folge gab dann Mouton (1902) ein einfaches und sicheres Verfahren an, um Amöben in sog. „gemischten Reinkulturen", welche nur eine Amöbenart zusammen mit nur einer bestimmten Bakterienart enthalten, zu züchten. Anfänglich wurden derartige Amöbenkulturen, für die Oehler (1917) die Bezeichnung „zweigliedrige Reinkulturen" vorschlug, hauptsächlich zu morphologischen und entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen benutzt, wobei namentlich das Verhalten des Kernes in der Ruhe und während der Teilung eingehende Beachtung fand. Von den zahlreichen, die Morphologie der Amöben und ihres Kernes behandelnden Arbeiten seien hier nur die während der letzten Jahre veröffentlichten eingehenden Untersuchungen von v. Wasielewski und Kühn (1914)

und von Jollos (1917) erwähnt. Ganz neuerdings wurden die Untersuchungen aber auch auf das biologisch-physiologische Verhalten der Kulturamöben ausgedehnt; mit derartigen Fragen beschäftigt sich vor allem die Arbeit von Oehler (1917). Über serologische Untersuchungen an Kulturamöben findet sich meines Wissens in der Literatur bisher nur eine kurze Mitteilung von Coca (1912), der zwei Kulturamöbenstämme zu Agglutinations- und Komplementbindungs-Versuchen benutzt hat.

Auch über das serologische Verhalten anderer Protozoen, abgesehen von den im Blut schmarotzenden Trypanosomen, Spirochaeten und Piroplasmen, finden sich in der Literatur bisher verhältnismäßig nur wenige Angaben. Der erste, der sich mit derartigen Untersuchungen an nicht parasitischen Protozoen beschäftigte, war Roeßle (1905). Er benutzte zur Herstellung spezifisch wirkender Immunsera zwei freilebende, saprophytische Ciliatenarten, Paramaecium caudatum und Glaucoma scintillans, sowie eine kleine Flagellatenart, Chilodon paramaecium, welche häufig in seinen Paramaecien-Kulturen auftrat, und deren Trennung von den Paramaecien Roeßle nicht immer gelang; zur Nahrung diente den Paramaecien ein Gemisch verschiedener Bakterien, während Glaucoma sich in Gemeinschaft mit einer bestimmten Bakterienart züchten ließ. Im Serum der mit den genannten Protozoen durch subcutane oder intraperitoneale Einspritzung immunisierten Kaninchen und Meerschweinchen ließen sich Antikörper feststellen, welche auf die dem betreffenden Immunserum homologen Infusorien und Flagellaten eine lähmende und unter Umständen, infolge tiefgreifender, die zur Nahrungsaufnahme und Exkretion dienenden Organe in Mitleidenschaft ziehender Lähmung auch eine abtötende, jedoch keine auflösende, der Bakteriolyse analoge Wirkung ausübten. In gleicher Weise, wenn auch in schwächerem Maße, wirkte allerdings auch Normalserum auf die betreffenden Protozoen ein. Im Gegensatz zum Normalserum machte sich aber im Immunserum außer der Lähmung auch noch eine gewisse Klebrigkeit der Protozoen in der Weise geltend, daß die Infusorien und Flagellaten leicht mit ihren Futterbakterien, der Wand und dem Boden des Kulturgefäßes oder, bei Beobachtung unter dem Mikroskop, mit dem Deckglas verklebten; auch konnte Roeßle feststellen, daß in einem Gemisch von Paramaecium und Chilodon unter dem Einfluß eines den beiden Protozoen homologen Immunserums leicht ein Verkleben der Infusorien mit den Flagellaten stattfand. Ein eigentliches Agglutinations-Phänomen der Infusorien untereinander wurde jedoch nicht beobachtet, weshalb es Roeßle auch nicht für richtig hält, die von ihm beobachteten Verklebungsvorgänge als Agglutination zu bezeichnen, „da man darunter das Zusammenkleben gleichartiger Zellen untereinander durch spezifisches Serum zu verstehen gewohnt ist". Die lähmende Wirkung des mit Paramaecium caudatum hergestellten Immunserums erwies sich insofern als spezifisch, als durch dieses Serum nur Paramaecium caudatum, jedoch keine andere Paramaecienart gelähmt wurde.

Bei ähnlichen Versuchen, die neuerdings Takenouchi (1918) ebenfalls mit Paramaecien angestellt hat, konnte dieser Autor im Normalserum verschiedener Warm- und Kaltblüter, sowie in den von ihm hergestellten Kaninchen-Immunseren gegen Paramaecien im Gegensatz zu Roeßle auch lytische Antikörper feststellen, welche eine Auflösung der Infusorien bewirkten. Nach Takenouchi handelt es sich bei

diesen lytischen Vorgängen um eine der Bakteriolyse analoge, komplexe Serumwirkung, da die Warmblütersera durch eine halbstündige Erwärmung auf 56°, die Kaltblütersera durch eine 20 Minuten dauernde Erwärmung auf 53° inaktiviert und erstere durch Zusatz von normalem Meerschweinchenserum wieder reaktiviert werden konnten, während eine Reaktivierung der Kaltblütersera sich weder mit normalem Meerschweinchenserum, noch mit normalem Froschserum erreichen ließ.

Was nun die oben bereits erwähnten Versuche von Coca (1912) betrifft, so züchtete er zwei verschiedene, von ihm als „Amoeba proteus“ und „Amoeba Reed“ bezeichnete Amöbenstämme auf Agarplatten und zwar mit zwei verschiedenen reinen Bakterienstämmen. Bei der Behandlung von Kaninchen mit diesen Amöbenstämmen ging er in der Weise vor, daß er die zur Immunisierung benutzten, zunächst in 0,4%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmten Kulturamöben durch mehrmaliges, langsames Zentrifugieren nach Möglichkeit von den ihnen zur Nahrung dienenden Bakterien befreite und mit einer Aufschwemmung der so gereinigten Amöben in 0,9%iger Kochsalzlösung Kaninchen subcutan und intravenös behandelte. Bei seinen Versuchen konnte er die mit „Amoeba proteus“ und „Amoeba Reed“ hergestellten Immunsera auf das Vorhandensein Komplement bindender Antikörper mit beiden Amöbenstämmen, auf etwa vorhandene Agglutinine aber nur noch mit einem Amöbenstamm („Amoeba proteus“) prüfen, da der andere vorher eingegangen war, wodurch die Vollständigkeit der Untersuchungen Cocas beeinträchtigt wurde.

Für die Agglutinationsversuche benutzte Coca Immun- und Normalserumverdünnungen von $^1/_{10}$ bis $^1/_{81920}$ und versetzte dieselben jeweils mit gleichen Mengen einer Amöbenaufschwemmung in 0,4%iger Kochsalzlösung. Die Sera waren vor dem Versuch durch $^1/_2$-stündige Erwärmung auf 57° inaktiviert worden. Bei dem ersten seiner Versuche hatten sich nach 1$^1/_2$ Stunden in sämtlichen Röhrchen alle Amöben zu Boden gesetzt. Er konnte aber dann bei mäßig starkem Schütteln der Röhrchen zwischen dem homologen und dem heterologen Immunserum gewisse Unterschiede insofern feststellen, als in letzterem, und zwar in allen Verdünnungen, die Amöben durch das Schütteln leicht voneinander und vom Boden des Röhrchens zu trennen und wieder einzeln in Suspension zu bringen waren, während im homologen Immunserum, und zwar in den Verdünnungen $^1/_{40}$ bis $^1/_{1280}$, die Amöben fester am Boden des Röhrchens hafteten und beim Aufschütteln in Klumpen, die nur durch starkes Schütteln aufzulösen waren, vereinigt blieben. Drei Stunden nach dem Ansetzen des Versuches zeigte sich auch in den homologen Immunserumverdünnungen $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ und $^1/_{2560}$ eine schwache Verklumpung der Amöben. Am folgenden Tage war nicht nur in allen homologen Serumverdünnungen, sondern auch in sämtlichen Röhrchen mit heterologem Serum und mit physiologischer Kochsalzlösung Verklumpung der Amöben eingetreten, die allerdings in den homologen Serumverdünnungen von $^1/_{10}$ bis $^1/_{2560}$ besonders deutlich erkennbar war. Bei einem zweiten, ebenfalls nur mit „Amoeba proteus“ angestellten Agglutinationsversuch konnte in den homologen Immunserumverdünnungen $^1/_{10}$ bis $^1/_{2560}$, und zwar am stärksten in den Verdünnungen $^1/_{40}$ bis $^1/_{160}$ eine Agglutination der Amöben festgestellt werden, während in den homologen Immunserum-Verdünnungen $^1/_{2,5}$, $^1/_5$ und $^1/_{5120}$, sowie in den Kaninchen-

Normalserumverdünnungen von $^1/_5$ bis $^1/_{5120}$ eine Verklumpung der Amöben nicht stattfand.

Bei dem ersten der beiden von Coca angestellten Komplementbindungsversuche, bei welchem als Antigen sowohl „Amoeba proteus", als auch „Amoeba Reed" zur Anwendung kam, wurde jeweils jeder Amöbenstamm mit fallenden Mengen (0,1—0,00625 ccm) des homologen und des heterologen Immunserums und 0,025 ccm Meerschweinchenserum angesetzt; dieser Mischung wurde dann, nachdem sie eine Stunde bei Zimmertemperatur gestanden hatte, je 1 ccm einer 5%igen sensibilisierten Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung zugefügt. Nach einstündigem Aufenthalt bei 37° konnte in allen Röhrchen, welche die dem betreffenden Immunserum entsprechende Amöbenart enthielten, eine vollständige Hemmung der Hämolyse beobachtet werden, während in allen Röhrchen mit der dem Immunserum nicht homologen Amöbenart, sowie in den Kontrollröhrchen ohne Antigenzusatz komplette Hämolyse eintrat. Bei dem zweiten Komplementbindungsversuch, welcher, wie die Agglutinationsversuche, mit nur einer Amöbenart („Amoeba proteus") ausgeführt werden konnte, bei dem aber auch eine Kontrollreihe nur mit der für die Fütterung der betreffenden Amöbenart benutzten Bakterienkultur angesetzt wurde, war wieder nur in den Röhrchen, welche Immunserum in Mengen von 0,2—0,0002 und 0,1 resp. 0,05 ccm Meerschweinchen-Serum mit der diesem Immunserum entsprechenden Amöbenart enthielten, eine verschieden starke Hemmung der Hämolyse erkennbar, während in allen Röhrchen, welche nur die Futterbakterien in verschieden starken Immunserumverdünnungen enthielten, vollständige Hämolyse eintrat.

Eine lytische Wirkung konnte Coca bei seinen durch Zusatz von 0,1 ccm Meerschweinchen-Serum reaktivierten Immunseren nach 4 stündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur nicht feststellen.

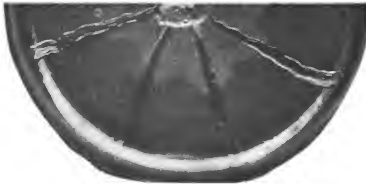
Bei diesen wenig umfangreichen Untersuchungen Cocas, die durch den Verlust des einen zur Immunisierung benutzten Amöbenstammes noch stark beeinträchtigt wurden, und angesichts der beträchtlich voneinander abweichenden Angaben Roeßles und Takenouchis über das serologische Verhalten von Infusorien spezifischen Immunseren gegenüber schien es mir, anläßlich einiger orientierender morphologischer Untersuchungen an verschiedenen Kulturamöbenstämmen von Interesse, auch das serologische Verhalten meiner Amöbenstämme etwas eingehender zu untersuchen.

II. Züchtungsverfahren.

Ich benutzte zu diesen serologischen Untersuchungen insgesamt 6 Amöbenstämme, die ich zu verschiedenen Zeiten aus verschiedenen Aufgüssen auf Heu, Stroh und Moos isolierte und auf Agarplatten züchtete. Ehe ich die morphologischen Unterschiede meiner Amöbenstämme und ihr Verhalten auf den Kulturplatten schildere, will ich zunächst einige Angaben über die von mir angewandte Züchtungsmethode machen: Für die Züchtung sog. „gemischter Reinkulturen" von Amöben fand ich, ebenso wie v. Wasielewski und Kühn (1914), das von Mouton (1902) angegebene Verfahren besonders gut brauchbar und habe es deshalb fast ausschließlich zur Anwendung gebracht; als Nährboden verwandte ich dabei den ebenfalls von Mouton angegebenen

„Amöbenagar“, der aus 20 Teilen Agar, 100 Teilen Rindfleischbouillon und 900 Teilen Aqua destillata besteht und wegen der Säureempfindlichkeit der Amöben neutral oder besser noch schwach alkalisch reagiert. Bei der Züchtung der Amöben ging ich dann, im Anschluß an Mouton, gewöhnlich so vor, daß ich mit Amöbenagar beschickte Petrischalen in acht von der Mitte zum Rande ausstrahlenden Strichen mit einer Futterbakterienart beimpfte und diese dann 24 Stunden bei 37^{0} wachsen ließ. Infolge des relativ geringen Gehaltes des Nährbodens an Nährstoffen wachsen die Bakterien nicht allzu üppig, was aber für das spätere Amöbenwachstum nur von Vorteil ist. Im Mittelpunkt der mit den Bakterienradien bewachsenen Platten verrieb ich sodann in einem Tropfen sterilen Wassers oder 0,85%iger Kochsalzlösung ein wenig Amöbenmaterial, und von hier aus fand dann auf den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Platten entlang den Bakterienradien eine allmähliche Ausbreitung der Amöben statt, wobei die Futterbakterien in mehr oder weniger vollständigem Maße von den sich stark vermehrenden Amöben aufgezehrt wurden. Von der Mehrzahl der von mir isolierten Amöbenarten züchtete ich jeweils von jedem Stamm mehrere Kulturen, jede mit einer anderen Futterbakterienart, und zwar benutzte ich als Futterbakterien meist Bacterium coli, Ruhr y-Bakterien und z. T. auch Typhus-Bakterien. Größere Unterschiede bezüglich des Wachstums derselben Amöbenart je nach dem ihr beigegebenen Futterbakterium machten sich im allgemeinen in stärker ausgesprochener Weise nicht geltend, wenn auch ein geringer Unterschied vielleicht insofern zu erwähnen ist, als bei einer meiner Amöbenarten der mit Typhusbakterien gezüchtete Stamm ein etwas schnelleres, der mit Ruhr y-Bakterien gezüchtete Stamm dagegen ein etwas langsameres Wachstum aufwies als der mit Bacterium coli gezüchtete Stamm. Zu Beginn der Züchtung mußten sich die Amöben augenscheinlich erst an die ihnen als Nahrung gebotenen Bakterien gewöhnen, denn ihre Ausbreitung vom Mittelpunkt zum Rand der Platte ging anfangs langsamer vor sich als später, nachdem die Amöben bereits einige Zeit auf Platten fortgezüchtet waren. Die Zeit, innerhalb deren eine jede der von mir gezüchteten Amöbenarten vom Plattenmittelpunkt aus sich bis zum Rande der Platte ausbreitete, blieb, nachdem die Amöben sich an ihre Futterbakterien gewöhnt hatten, für jede Amöbenart ungefähr gleich, war aber für die einzelnen Amöbenarten verschieden lang, so daß z. B. die eine meiner Amöbenarten meist schon nach zwei Tagen den Rand der Platte erreicht und ihre Futterbakterien fast restlos aufgezehrt hatte, während eine andere Amöbenart erst nach etwa 4—5 Tagen bis zum Plattenrand vorgedrungen war. Da diese verschiedenen Zeiträume, innerhalb deren die Amöben sich über die ganze Platte ausbreiteten, für die verschiedenen Amöbenarten charakteristisch waren, so wird auf sie bei der Beschreibung der einzelnen von mir gezüchteten Amöbenarten noch etwas genauer eingegangen werden. Aber nicht nur in der Schnelligkeit, sondern auch in der Art und Weise der Ausbreitung über die Kulturplatten zeigten die verschiedenen Amöbenarten deutliche Unterschiede: So konnte bei zwei meiner Amöbenarten regelmäßig eine höchst charakteristische Art der Ausbreitung über die Platte insofern beobachtet werden, als ein Wachstum der Amöbenkultur vom Plattenmittelpunkt aus nicht nur entlang der Bakterienradien, sondern auch zwischen den Bakterienradien stattfand, wobei allerdings das Wachstum

an den Radien, wo die Amöben Nahrung in großen Mengen fanden, schneller vor sich ging, als zwischen den Radien. Infolgedessen zeigte die Amöbenkultur, die bei etwas schräg auffallendem Licht auf der Agarplatte makroskopisch als ein leichter Hauch deutlich sichtbar war, das sehr regelmäßige und höchst charakteristische Aussehen eines Sternes, dessen acht Spitzen auf den Bakterienradien gelegen waren (vergl. Textfigur A). Andere meiner Amöbenarten hielten sich bei ihrer Ausbreitung über die Platte ziemlich eng an den Verlauf der Bakterienradien, die sie mehr oder weniger vollständig aufzehrten, während zwischen den Radien nur vereinzelte Amöben zu finden waren; in solchen Kulturen fiel einige Zeit, nachdem die Platten mit Amöben beimpft worden waren, besonders auf, daß die ursprünglich im Mittelpunkt der Platte zusammenstoßenden Bakterienradien auf eine gewisse, meist bei allen Radien gleiche Entfernung vom Zentrum nicht mehr sichtbar, resp. durch eine hauchartige Trübung des Nährbodens ersetzt waren, deren Breite die der Bakterienradien nur wenig übertraf, und die, wie die mikroskopische Kontrolle ergab, aus Amöben resp. deren Cysten bestanden. Schließlich sei noch erwähnt, daß die größte der von mir gezüchteten Amöbenarten, die ich als Amöbe H I bezeichnet habe, in der Regel nicht nur auf der Plattenoberfläche sich ausbreitete, sondern auch in häufig beträchtlicher Menge in die Tiefe der Agarplatte eindrang, wo sie eigenartige langgestreckte, bandartige Formen annahm; ob im Agar auch eine Vermehrung der Amöben durch Teilung stattfand, habe ich bisher nicht feststellen können.



Figur A. „Sternförmiges" Wachstum einer Kultur des Amöbenstammes M I.

Da bei der geschilderten Art des Wachstums der Amöbenkultur entlang der Bakterienimpfstriche die Ausbreitung der Amöben schneller erfolgt als die der saprophytischen Begleitbakterien, mit denen zusammen die Amöben aus einer Heu- usw. Infusion auf die Kulturplatte übertragen werden, so läßt es sich dadurch, daß bei Weiterimpfungen das Amöbenmaterial immer möglichst nahe dem Plattenrande entnommen wird, nach einigen Serienübertragungen erreichen, daß den Amöben statt der ursprünglichen Begleitbakterien nur noch die Bakterienart, mit der die Kulturplatten vorbeimpft sind, als Nahrung zur Verfügung steht.

Von besonderer Wichtigkeit war es für meine Immunisierungsversuche, nicht nur die Amöben mit einer bestimmten Bakterienart zusammen zu züchten, sondern vor allem auch Reinkulturen von den zur Immunisierung verwendeten Amöben, die nur eine Amöbenart mit ihren Futterbakterien enthielten. Ich bin, um das zu erreichen, bei jeder der verschiedenen von mir für Immunisierungszwecke gezüchteten Amöbenarten von einer sog. „Einzellkultur" ausgegangen, d. h. ich habe jeweils eine einzige Amöbe resp. Amöbencyste isoliert und als Ausgangsmaterial für eine Kulturserie ver-

wendet. Von den verschiedenen für die Isolierung von Amöben oder ihren Cysten in der Literatur angegebenen Verfahren (vergl. Wülker, 1911) habe ich das folgende benutzt: Unter der binokularen Lupe fischte ich mit einer feinen Capillare einzeln liegende Amöben oder Amöbencysten aus den Kulturen heraus und brachte sie zunächst auf folgende, von Walker (1908) angegebene Weise in einer „Mikrokultur" zur Vermehrung: Auf ein in der Flamme sterilisiertes Deckgläschen brachte ich einen Tropfen flüssigen Amöbenagars, und auf diesen, nachdem er erstarrt war, einen Tropfen sterilen Wassers oder 0,85%iger Kochsalzlösung, den ich mit einer Spur von Kolibakterien beimpfte. In diesen Tropfen legte ich dann das die isolierte Amöbe oder Cyste enthaltende Endstück der Capillare und deckte schließlich das Deckglas mit der Mikrokultur nach unten über die mit Vaseline umrandete Höhlung eines hohlgeschliffenen Objektträgers oder über die ebenso umrandete Öffnung einer „feuchten Kammer" nach Fr. E. Schulze. Wenn sich nach einigen Tagen die isolierte Amöbe resp. Cyste vermehrt hatte, was sich unter dem Mikroskop leicht feststellen ließ, nahm ich das Deckglas ab, schnitt mit dem Schreibdiamanten die mit Vaseline verunreinigte Randpartie ab und legte das Deckglas mit der Mikrokultur nach unten auf die Mitte einer mit Bakterienradien vorgeimpften Amöbenagarplatte, auf der dann die weitere Vermehrung der Amöben entlang der Bakterienradien in der oben beschriebenen Weise erfolgte. Zur Immunisierung meiner Kaninchen sowie zur Anstellung der Agglutinations- usw. Versuche habe ich mich, um sichere und eindeutige Versuchsergebnisse zu erzielen, ausschließlich derartiger, von einer einzigen Amöbe ausgehender „gemischter Reinkulturen" bedient. Das von Mouton angegebene Züchtungsverfahren, wie auch ich es in der Regel angewandt habe, erscheint mir nicht nur für die Trennung der Amöben von verunreinigenden Bakterien, sondern auch für die dauernde Reinhaltung der Amöbenkulturen besser geeignet, als das von Oehler (1917) empfohlene Verfahren, bei dem die Platte mit einer die ganze Platte bedeckenden Bakterienschicht vorgeimpft wird, auf welche dann an einer oder mehreren Stellen Amöben aufgeimpft werden. Ein diesem letzteren ähnliches Verfahren habe ich nur dann zur Anwendung gebracht, wenn es mir, wie z. B. bei der Herstellung eines Amöbenextraktes für die Präzipitationsversuche, darauf ankam, möglichst viele Amöben auf einer Platte zu haben; in solchen Fällen habe ich die Amöben auf die ganz von Bakterien überwucherte Platte nicht nur an einzelnen Stellen aufgeimpft, sondern eine Aufschwemmung der Amöben in sterilem Wasser oder 0,85%iger Kochsalzlösung mittels Drigalskispatels möglichst gleichmäßig über die Platte verteilt.

Erwähnt sei schließlich noch, daß es mir auch gelungen ist, die Amöben mit abgetöteten Bakterien zu füttern. Ich setzte, um die Bakterien abzutöten, die mit Bakterienradien oder mit einer gleichmäßigen Bakterienschicht bewachsenen Platten ½ Stunde der Einwirkung von Chloroformdämpfen aus, indem ich in den Deckel der betreffenden Platten ein mit Chloroform getränktes Stück Filtrierpapier legte. Sodann stellte ich die so vorbehandelten Platten offen, aber mit der Oberfläche der Agarschicht nach unten längere Zeit in den 37°-Brutschrank, um das Chloroform verdunsten zu lassen, und beimpfte, sobald ein Chloroformgeruch nicht mehr wahrnehmbar war, die Platten in der gewohnten Weise mit Amöben. Nachdem die Amöben sich erst einmal

an die abgetöteten Futterbakterien gewöhnt hatten, wuchsen sie auf den mit Chloroformdämpfen behandelten Platten ebenso gut wie auf Platten mit lebenden Futterbakterien. Durch wiederholtes Abimpfen der abgetöteten Bakterien auf gewöhnliche Agarplatten konnte festgestellt werden, daß die den Chloroformdämpfen ausgesetzt gewesenen Bakterien in der Tat nicht mehr am Leben waren.

III. Morphologie und kulturelles Verhalten der zu den serologischen Untersuchungen benutzten Amöben.

Auf die oben beschriebene Weise isolierte und züchtete ich im Lauf der Zeit eine ganze Anzahl von Amöbenstämmen, von denen bei meinen serologischen Versuchen, wie schon erwähnt, sechs zur Verwendung kamen. Eine Identifizierung der von mir gezüchteten verschiedenen Amöbenarten mit schon von anderen Autoren beschriebenen und benannten Arten hätte ein genaues Studium der Morphologie und vor allem der Kernteilung der einzelnen Amöbenarten nötig gemacht. Da jedoch eine solche Identifizierung für meine Versuche zunächst nicht von Bedeutung war, es mir vielmehr lediglich darauf ankam, eine Anzahl verschiedener Amöbenarten zu züchten, deren Verschiedenheit auf Grund leicht erkennbarer morphologischer und kultureller Eigenschaften festzustellen war, so begnügte ich mich damit, unter den von mir gezüchteten Amöbenstämmen diejenigen auszuwählen und fortzuzüchten, die den genannten Anforderungen entsprachen. Je nachdem ich einen Amöbenstamm aus einem Heu-, Stroh- oder Moosaufguß isoliert hatte, bezeichnete ich ihn mit einem H, St oder M und einer Nummer. Wo es im Verlauf dieser Arbeit darauf ankam, auch die Futterbakterienart, mit denen eine Amöbenart gefüttert worden war, anzugeben, habe ich das in der Weise getan, daß ich hinter die Amöbenbezeichnung H I, H II, M I usw. die Buchstaben Ko resp. y setzte, um damit zum Ausdruck zu bringen, daß der betreffende Amöbenstamm mit Koli- resp. Ruhr y-Bakterien gefüttert worden war. Es seien nun im folgenden einige morphologische und kulturelle Eigenschaften der sechs von mir als H I, H II, H IV, H V, M I und St I bezeichneten Amöbenstämme, die bei meinen serologischen Untersuchungen Verwendung fanden, kurz beschrieben:

H I, die größte von mir gezüchtete Amöbe, zeigte auf den Kulturplatten in der Regel eine ovale bis runde Form. Während der Durchmesser der runden Formen durchschnittlich etwa 16—20 μ betrug, waren Längs- und Querdurchmesser der ovalen Formen, je nach dem Grad der Streckung, in dem die betreffende Amöbe sich gerade befand, verschieden groß, und zwar betrug der Querdurchmesser nicht selten etwa 18 μ, während der Längsdurchmesser fast immer zwischen 20 und 30 μ lag. Die anfangs runden, später häufig mehr oder weniger regelmäßig fünfeckig gestalteten Cysten dieser Amöben wiesen einen Durchmesser von etwa 12—16 μ auf. Im Beginn der Züchtung zeigte diese Amöbe auf den Kulturplatten eine Wachstumsform, die ich nach dem Vorschlag von Oehler (1917) als „zerstreutes Wachstum“ bezeichnen möchte: Die Amöben zerstreuten sich vom Mittelpunkt aus über die ganze Platte, wobei allerdings die Mehrzahl von ihnen innerhalb der Bakterienradien lag, während die Zahl der zwischen den Radien liegenden Amöben mit der Entfernung vom Mittelpunkt der Platte immer mehr abnahm. Aber auch innerhalb der Radien lagen

die Amöben nicht in dichtgedrängten Massen beieinander, sondern mehr einzeln und durch mehr oder weniger breite Bakterienstreifen voneinander getrennt. Wahrscheinlich ist die Ursache für dieses „zerstreute Wachstum", wie Oehler angibt, darin zu suchen, daß „die gebotene Bakteriennahrung den Amöben nur teilweise zusagt". Die Richtigkeit dieser Vermutung geht auch aus dem Umstand hervor, daß die meiner Amöbe HI zur Verfügung stehenden Futterbakterien (Typhus-, Ruhr y- und Kolibakterien) anfangs nur z. T. von den Amöben aufgezehrt wurden, was, wie später gezeigt werden soll, für das Ergebnis meiner serologischen Untersuchungen nicht ohne Bedeutung war. Nachdem die Amöben längere Zeit auf Agarplatten gezüchtet worden waren und sich augenscheinlich an die ihnen gebotene Bakteriennahrung gewöhnt hatten, hielten sie sich bei ihrem Wachstum ziemlich genau an die Bakterienradien, innerhalb deren sie in großer Anzahl dicht gedrängt beieinander lagen, während sie außerhalb der Radien nur in schmalen Streifen zu beiden Seiten der Bakterienstriche in einigermaßen erheblicher Anzahl zu finden waren. Die Bewegungen dieser Amöbe waren sowohl auf der Platte, als auch im Wasser nur langsam und bei schwacher Vergrößerung kaum wahrnehmbar. Die Fortbewegung erfolgte in der sog. „Limax-Form", d. h. die Amöbe streckte nicht nach verschiedenen Richtungen Pseudopodien aus, sondern bildete sozusagen ein einziges nach einer Richtung langsam fortfließendes Pseudopodium. Die Ausbreitung dieser Amöbe vom Mittelpunkt bis zum Rande der Platte dauerte etwa 4—5 Tage, zuweilen auch noch länger. Flagellatenbildung wurde nicht beobachtet, dagegen konnte, wie oben bereits erwähnt, festgestellt werden, daß diese Amöbenart häufig in großer Anzahl mehr oder weniger tief in den Agar eindrang.

Im Gegensatz zu der HI-Amöbe war die von mir als HII bezeichnete Amöbenart sehr klein. Auf den Kulturplatten zeigte sie in der Regel eine ziemlich kreisrunde Form von etwa 4—6 μ Durchmesser, während der Durchmesser ihrer Cysten im Durchschnitt 3—4 μ betrug. Auch hinsichtlich ihrer Wachstumsform unterschied sich diese Amöbe von der HI-Amöbe insofern, als sie sich stets eng an die Bakterienradien hielt, innerhalb deren sie in dichtgedrängten Massen sich „wallartig", um die Oehlersche Bezeichnung zu gebrauchen, vorwärts schob und bei diesem Vordringen die Bakterien fast restlos aufzehrte. Man konnte infolgedessen an dem vom Mittelpunkt zum Rand der Platte allmählich fortschreitenden Schwinden der Bakterienstreifen deutlich das Vordringen der Amöben erkennen, bis nach etwa 3—4 Tagen der sich vorschiebende Amöbenwall den Plattenrand erreicht hatte und die Bakterien fast völlig durch Amöben, resp. deren Cysten ersetzt waren. Die Bewegungen der HII-Amöbe erfolgten, wie die der HI-Amöbe, nur langsam. Flagellatenbildung, sowie ein Eindringen in den Agar wurde nicht beobachtet.

Mit der Amöbe HII stimmte die von mir mehrere Monate später aus einem neuen Heuaufguß isolierte und gezüchtete, als HIV bezeichnete Amöbe in jeder Beziehung, sowohl hinsichtlich ihrer Morphologie als auch hinsichtlich ihres Wachstums auf der Kulturplatte völlig überein, so daß ich bereits auf Grund dieser Übereinstimmung zu der Vermutung kam, daß es sich um zwei der gleichen Art angehörende Amöbenstämme handele. Über das serologische Verhalten der beiden Amöben HII und HIV, durch das diese Vermutung bestätigt wurde, wird unten genauer zu berichten sein.

Nicht sehr viel größer, wohl aber wesentlich lebhafter beweglich als die beiden zuletzt beschriebenen Amöben war eine von mir als St I bezeichnete Amöbe, deren Durchmesser in abgerundetem Zustand etwa 6—10 μ betrug, während die Cysten einen Durchmesser von etwa 4—6 μ aufwiesen. Von allen von mir gezüchteten Amöben überwucherte die St I-Amöbe am schnellsten die ganze Platte, wobei sie sich eng an die Bakterienradien hielt. Häufig erreichte das Amöbenwachstum bereits einen Tag nach Beimpfung der Platte mit Amöben den Plattenrand. Die Art des Wachstums war ähnlich wie bei den Amöben H II und H IV, und die Bakterien wurden ebenfalls restlos von den Amöben vertilgt. Ein Eindringen in den Agar, sowie die Bildung von Flagellaten konnte auch bei dieser Amöbe nicht beobachtet werden.

Die Fähigkeit, in Leitungswasser nach etwa 2—3 Stunden in eine zweigeißelige Flagellatenform überzugehen, war dagegen charakteristisch für die beiden von mir als H V und M I bezeichneten Amöbenstämme, die auch in ihren morphologischen und kulturellen Eigenschaften in weitgehendem Maße miteinander übereinstimmten, wenigstens soweit es sich um die lebenden, nicht gefärbten Amöben handelte. Beide Amöben besaßen ein sehr dünnflüssiges Protoplasma und waren sehr lebhaft beweglich. Die Vorwärtsbewegung erfolgte meist in „Limaxform“, wobei die Amöben häufig Fächerform annahmen, indem das in der Kriechrichtung vordere Ende sich verbreiterte, während das Hinterende mehr oder weniger spitz auslief. Vielfach sah man auch lebhafte Pseudopodienbildung nach verschiedenen Richtungen, wobei sich das von dem körnigen Entoplasma deutlich unterschiedene Ektoplasma mit großer Vehemenz, fast „explosionsartig“ und in der Regel etwa halbkugelförmig vorwölbte und dann wieder eingezogen wurde, so daß die Form solcher Amöben einem ständigen, schnellen Wechsel unterworfen war. Abgerundete Formen wurden nicht beobachtet, dagegen zeigten die Cysten ein kugelförmiges Aussehen und maßen im Durchmesser etwa 10 μ, während die „Limaxformen“ häufig etwa 20—22 μ lang und etwa 10 μ breit waren. Das Wachstum beider Amöben erfolgte nicht nur entlang der Bakterienradien, auf denen sich die Amöben in dichten Massen „wallartig“ vorwärts schoben, sondern auch die Zwischenräume zwischen den Radien waren ganz gleichmäßig von einer großen Zahl von Amöben, resp. ihren Cysten bedeckt. Auf diese Weise kam bei beiden Amöbenstämmen die charakteristische Sternform der Amöbenkultur zustande, wie sie oben bereits genauer beschrieben und abgebildet worden ist (vergl. S. 138). Hinsichtlich ihrer im Leben erkennbaren morphologischen Eigenschaften stimmen diese zwei Amöbenarten in weitgehendem Maße mit der von Gläser (1912) beschriebenen Amoeba tachypodia überein. Ob sie aber mit dieser Amöbenart identisch sind, kann ich mangels genauerer Kenntnisse über die Kernteilung meiner beiden Amöbenstämme nicht mit Sicherheit sagen. Jedenfalls hat Gläser die Umwandlung seiner Amoeba tachypodia in zweigeißelige Flagellaten, wie sie bei meinen beiden Amböenstämmen regelmäßig in Leitungswasser eintrat, nicht beobachtet. Auf diese Flagellatenbildung, sowie auf die wichtige Frage, ob die Amöben H V und M I auf Grund ihrer weitgehenden morphologischen, kulturellen und biologischen Übereinstimmung untereinander als artgleich anzusehen sind, soll erst am Schluß meiner Arbeit genauer eingegangen werden.

IV. Immunisierungsversuche.

Zu meinen Immunisierungsversuchen benutzte ich die im vorigen Abschnitt beschriebenen sechs Amöbenstämme, und zwar ging ich dabei in folgender Weise vor: Die Amöbenkulturen wurden, wenn die Amöben bis zum Rand der Platte vorgedrungen waren, was, wie oben erwähnt, bei den verschiedenen Arten nach verschieden langer Zeit der Fall war, mit 2 ccm 0,85 %iger Kochsalzlösung abgeschwemmt und die so gewonnenen Aufschwemmungen wurden in Zwischenräumen von 8 Tagen Kaninchen intravenös injiziert. Ich begann die Behandlung mit 0,25 ccm und steigerte die Dosen allmählich so weit, daß den Kaninchen schließlich die gesamte Menge von Amöben und Futterbakterien — soweit letztere noch vorhanden waren — von 4—6 Platten auf einmal eingespritzt wurde. Abweichend von Coca (1912) habe ich davon abgesehen, die Amöben durch mehrmaliges, langsames Zentrifugieren von ihren Futterbakterien zu trennen, weil eine derartige Trennung bei den größeren Amöbenarten nur unvollständig, bei den kleineren dagegen, wie z. B. bei meiner H II-Amöbe, fast gar nicht gelingt. Bei längerem Zentrifugieren bekommt man zwar die Hauptmenge der Amöben in den Bodensatz, doch werden dabei auch beträchtliche Bakterienmengen mit zu Boden gerissen. Bei nur kurz dauerndem Zentrifugieren dagegen geht ein nicht unbeträchtlicher Teil der Amöben verloren, da er in der überstehenden Flüssigkeit zurückbleibt; außerdem aber ist es auch bei kurz dauerndem Zentrifugieren nicht zu vermeiden, daß auch ziemlich viele Bakterien, die teils von den Amöben aufgenommen, aber noch nicht verdaut sind, teils den Amöben äußerlich anhaften, mit in den Bodensatz kommen. Da ich für Immunisierungszwecke nur solche Kulturplatten verwandte, auf denen die Amöben bis zum Rand vorgedrungen waren, so war, namentlich bei den schnell über die Platte sich ausbreitenden Amöbenstämmen, welche die Bakterien fast restlos aufzehrten, die Zahl der den Kaninchen mit den Amöben zusammen eingespritzten Bakterien nur verhältnismäßig gering. Nach mehreren Injektionen wurde den Kaninchen eine kleine Blutprobe entnommen und das Serum auf seinen Antikörpergehalt gegen Amöben geprüft. Erwies sich dieser als genügend hoch, so wurde das betreffende Tier entblutet, ein Teil des Serum in aktivem Zustand auf das Vorhandensein lytischer Antikörper untersucht, die Hauptmenge aber durch ½ stündiges Erwärmen auf 56° inaktiviert, in der üblichen Weise durch Karbolzusatz konserviert und im Eisschrank aufbewahrt. Erwähnt sei noch, daß auch das bei meinen Versuchen zur Anwendung kommende Kaninchen-Normalserum in genau der gleichen Weise behandelt und aufbewahrt wurde.

V. Untersuchungsergebnisse.

1. Untersuchungen zum Nachweis lytischer Antikörper.

Versuche zum Nachweis lytischer Antikörper gegen Amöben in meinen auf die oben beschriebene Weise gewonnenen Immunseren sind von mir in größerer Anzahl und mit verschiedenen Amöben angestellt worden, jedoch, wie gleich erwähnt sei, stets mit negativem Ergebnis. Ich war dabei zunächst so vorgegangen, daß ich von aktivem Immun- und Normalserum fallende Mengen von 0,3—0,1 ccm jeweils mit 3 Tropfen

einer Amöbenaufschwemmung in 0,85 %iger Kochsalzlösung versetzte, nach ½, 1, 2 und 3 Stunden aus jedem Röhrchen eine Probe entnahm und unter dem Mikroskop untersuchte. In Parallelreihen waren in gleicher Weise fallende Mengen von inaktivem Immun- und Normalserum unter Zusatz von je 0,1 ccm Komplement angesetzt worden, aus denen nach den angegebenen Zeiten ebenfalls Proben entnommen und mikroskopisch durchgesehen wurden. Lytische Vorgänge wurden dabei in keinem Fall an den Amöben beobachtet. Dagegen fiel es schon bei den ersten Entnahmen auf, daß in sämtlichen Proben alle Amöben abgerundet und infolgedessen unbeweglich waren. In den später entnommenen Proben ließ sich dann bei der Mehrzahl der dauernd abgerundeten Amöben die Bildung einer Cystenhülle feststellen. Ein irgendwie erheblicher Unterschied zwischen aktivem, resp. reaktiviertem Immunserum und aktivem, resp. reaktiviertem Normalserum war dabei nicht erkennbar. Da es nun einerseits nicht ausgeschlossen erschien, daß vielleicht, ähnlich wie das Takenouchi (1918) beobachtet hatte, die Konzentration der zur Serumverdünnung und Aufschwemmung der Amöben benutzten Kochsalzlösung (0,85 %) an dem negativem Ergebnis der Versuche schuld waren, so wurden die Versuche später mit 0,6 %iger Kochsalzlösung wiederholt. Aber auch hier war das Ergebnis das gleiche: es kam in den benutzten Serumkonzentrationen regelmäßig zur Cystenbildung, niemals dagegen zum Auftreten lytischer Erscheinungen. Anderseits war aber auch daran zu denken, daß bei den Lysisversuchen mit solchen Immunseren, welche gleichzeitig auch Antikörper gegen die den Amöben beigemengten Futterbakterien enthielten, durch die Einwirkung dieser Antikörper auf die ihnen entsprechenden Bakterien eine Ablenkung des Komplements und dadurch ein Ausbleiben der Lysis bei den Amöben bedingt sein konnte. Daß aber diese Vermutung nicht zutraf, ging aus dem hinsichtlich der Amöbenlysis ebenfalls negativen Ausfall der Versuche mit solchen Seris hervor, welche keine Antikörper gegen die den zum Versuch benutzten Amöben beigemengten Bakterien enthielten. Der Grund für das Ausbleiben einer Lysis dürfte wohl hauptsächlich darin zu suchen sein, daß in den von mir benutzten hohen Serumkonzentrationen schon nach kurzer Zeit Enzystierung der Amöben erfolgte; erwähnt sei noch, daß das schnelle Eintreten der Enzystierung auch in entsprechend hohen Konzentrationen inaktiver Sera beobachtet werden konnte.

2. Komplement-Bindungsversuche.

Während der Nachweis lytisch wirkender Antikörper gegen Amöben in meinen Immunseris nicht gelungen war, hatten die mit denselben Seris angestellten Komplement-Bindungsversuche ein positives Ergebnis insofern, als es mir bei diesen Versuchen gelang, in den Seris Komplement bindende Antikörper gegen die Amöben sowohl, als auch gegen ihre Futterbakterien nachzuweisen.

Die Versuche wurden von mir einheitlich in der Weise ausgeführt, daß jeweils zu fallenden Immunserummengen von 0,03—0,001 ccm die gleiche Antigenmenge und zwar 0,2 ccm einer Amöben mit ihren Futterbakterien, resp. die Futterbakterien allein enthaltenden Aufschwemmung und 0,1 ccm Komplement zugesetzt wurden. Diese Mischung wurde dann nach einstündigem Aufenthalt bei 37° mit einer 5 %igen,

mit der doppelt lösenden Ambozeptormenge sensibilisierten Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung versetzt. Als Antigen benutzte ich bei meinen ersten Versuchen jeweils einen dem Immunserum homologen Amöbenstamm, der mit anderen Bakterien gefüttert worden war, als sie bei demselben zur Immunisierung benutzten Amöbenstamm zur Anwendung gekommen waren; es wurde also z. B. ein Immunserum, zu dessen Herstellung der mit Koli-Bakterien gefütterte H II-Amöbenstamm gedient hatte, ausgewertet mit dem mit Ruhr y-Bakterien zusammen gezüchteten H II-Amöbenstamm, um zu verhindern, daß etwa im Immunserum vorhandene Komplement bindende Antikörper gegen die Futterbakterien zu einer falschen Auslegung der Versuchsergebnisse führten. Die von mir als reines Bakterien-Antigen benutzte Kochsalzaufschwemmung lebender Bakterien enthielt in 1 ccm etwa $^1/_5$ Öse einer 24 Stunden alten Bakterienkultur. Die Aufschwemmung der Amöben mit ihren Futterbakterien wurde dann in der Weise hergestellt, daß ich dichtbewachsene Amöbenkulturen mit je 2 ccm 0,85 $^0/_0$ iger Kochsalzlösung abschwemmte und die so gewonnene dichte Amöben-Bakterienaufschwemmung mit Kochsalzlösung soweit verdünnte (in der Regel etwa 1 : 7), daß sie schließlich in ihrer Dichte möglichst genau der Aufschwemmung der Bakterien allein entsprach, mithin in 1 ccm nur einen geringen Bruchteil von $^1/_5$ Öse Bakterien enthalten konnte.

Die nachfolgende Tabelle I (S. 146) gibt zwei Beispiele meiner in der angegebenen Weise angestellten Versuche wieder.

Die Übersicht über das Ergebnis des Versuches A läßt im Röhrchen 1 zwar eine vollständige Hemmung der Hämolyse erkennen, bereits im Röhrchen 2 aber war die Beeinflussung der Hämolyse nicht stärker, als sie auch durch die Amöben-Bakterienaufschwemmung allein ohne Zusatz von Immunserum (Röhrchen 5) bedingt wurde; die nur Bakterien als Antigen enthaltenden Röhrchen 11—17 ließen, da das in ihnen enthaltene Immunserum den Bakterien ja nicht homolog war, keine Spur einer Beeinflussung der Hämolyse erkennen. Wesentlich stärker als in diesem Versuch war die Komplement bindende Wirkung des Immunserums dagegen im Versuch B, bei welchem, auch wenn man die geringe Beeinflussung der Hämolyse durch die Amöben-Bakterienaufschwemmung ohne Serumzusatz (Röhrchen 5) berücksichtigt, in allen Röhrchen mit spezifischem Immunserum und den dem Serum homologen Amöben (Röhrchen 1—4) eine ausgesprochene, in den ersten beiden Röhrchen sogar eine vollständige, resp. fast vollständige Hemmung der Hämolyse eingetreten war, während das Normalserum mit der gleichen Amöben Bakterienaufschwemmung und das Immun- und Normalserum mit Bakterien allein die Hämolyse in keiner Weise beeinflußt hatte.

Bei einigen später von mir angestellten Versuchen, bei welchen als Antigen ein Amöbenstamm verwendet wurde, der mit denselben Bakterien gefüttert war, wie der zur Immunisierung benutzte Amöbenstamm, machte sich allerdings auch in den Immunserum und Bakterien allein enthaltenden Röhrchen eine stärkere Beeinflussung der Hämolyse geltend. Ein Beispiel für einen solchen Versuch gibt das in Tabelle II wiedergegebene Protokoll, aus dem ersichtlich ist, daß eine teils vollständige, teils immerhin beträchtliche Hämolysehemmung nicht nur in den mit Amöben-Bakterienaufschwemmung beschickten Immunserum-Röhrchen 1—4, sondern auch in den Immunserum und Bakterien allein enthaltenden Röhrchen 11—13 eingetreten war.

Tabelle I.

Bei allen Komplement-Bindungs-Versuchen wurde einheitlich folgendermaßen verfahren: Kulturmaterial, Serum und Komplement wurden 1 Stunde bei 37° gehalten, dann jedem Röhrchen 1 ccm des hämolytischen Systems, das vorher $^1/_2$ Stunde bei 37° gehalten worden war, zugesetzt. Bedeutung der in dieser und allen folgenden Tabellen über Komplement-Bindungs-Versuche angewandten Bezeichnungen: 0 = keine, + = schwache, ++ = mäßige, +++ = starke, ++++ = vollständige Hämolyse. H II Ko resp. H II y = Amöbe H II mit Koli-, resp. y-Ruhr-Bakterien.

Röhrchen Nr.	Menge und Art des Serums		Komplement	Antigen	Ergebnis der Hämolyse nach 24 Stunden
			Versuch A.		
	ccm				
1	0,03		0,1 ccm Meerschw.-Kompl.	H II Ko-Amöben	0
2	0,01	H II y-Serum	0,1 „ „ „	„ „	+++
3	0,003		0,1 „ „ „	„ „	++++
4	0,001		0,1 „ „ „	„ „	++++
5		—	0,1 „ „ „	„ „	+++
6	0,03	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	+++
7	0,01	Normalserum	0,1 „ „ „	„ „	++++
8	0,03	H II y-Serum	0,1 „ „ „	—	++++
9	0,01		0,1 „ „ „	—	++++
10		—	0,1 „ „ „	—	++++
11	0,03		0,1 „ „ „	Koli-Bakterien	++++
12	0,01	H II y-Serum	0,1 „ „ „	„ „	++++
13	0,003		0,1 „ „ „	„ „	++++
14	0,001		0,1 „ „ „	„ „	++++
15		—	0,1 „ „ „	„ „	++++
16	0,03		0,1 „ „ „	„ „	++++
17	0,01	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	++++
18	0,03	Normalserum	0,1 „ „ „	—	++++
19	0,01		0,1 „ „ „	—	++++
			Versuch B.		
1	0,03		0,1 ccm Meerschw.-Kompl.	H II y-Amöben	0
2	0,01	H II Ko-Serum	0,1 „ „ „	„ „	fast 0
3	0,003		0,1 „ „ „	„ „	+
4	0,001		0,1 „ „ „	„ „	++
5		—	0,1 „ „ „	„ „	+++
6	0,03	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	++++
7	0,01	Normalserum	0,1 „ „ „	„ „	++++
8	0,03	H II Ko-Serum	0,1 „ „ „	—	++++
9	0,01		0,1 „ „ „	—	++++
10		—	0,1 „ „ „	—	++++
11	0,03		0,1 „ „ „	y-Ruhr-Bakterien	++++
12	0,01	H II Ko-Serum	0,1 „ „ „	„ „	++++
13	0,003		0,1 „ „ „	„ „	++++
14	0,001		0,1 „ „ „	„ „	++++
15		—	0,1 „ „ „	„ „	++++
16	0,03		0,1 „ „ „	„ „	++++
17	0,01	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	++++
18	0,03	Normalserum	0,1 „ „ „	—	++++
19	0,01		0,1 „ „ „	—	++++

Tabelle II.

Röhrchen Nr.	Menge und Art des Serums		Komplement	Antigen	Ergebnis der Hämolyse nach 24 Stunden
	ccm				
1	0,03	H I Ko-Serum	0,1 ccm Meerschw.-Kompl.	H I Ko-Amöben	0
2	0,01		0,1 " " "	" "	0
3	0,003		0,1 " " "	" "	+
4	0,001		0,1 " " "	" "	+
5		—	0,1 " " "	" "	++++
6	0,03	Kaninchen-Normalserum	0,1 " " "	" "	++++
7	0,01		0,1 " " "	" "	++++
8	0,03	H I Ko-Serum	0,1 " " "	—	++++
9	0,01		0,1 " " "	—	++++
10		—	0,1 " " "	—	++++
11	0,03	H I Ko-Serum	0,1 " " "	Koli-Bakterien	0
12	0,01		0,1 " " "	" "	0
13	0,003		0,1 " " "	" "	+
14	0,001		0,1 " " "	" "	+++
15		—	0,1 " " "	" "	++++
16	0,03	Kaninchen-Normalserum	0,1 " " "	" "	++++
17	0,01		0,1 " " "	" "	++++
18	0,03		0,1 " " "	—	++++
19	0,01		0,1 " " "	—	++++

Es geht daraus hervor, daß das bei diesem Versuch verwandte, mit dem Amöbenstamm H I und den ihm zur Nahrung dienenden Kolibakterien hergestellte Immunserum auch reichlich Antikörper gegen Kolibakterien enthielt, was bei diesem Stamm noch besonders damit zusammenhängt, daß die Vertilgung der Futterbakterien durch den Amöbenstamm H I keine so vollständige war wie bei anderen Stämmen, so daß bei der Immunisierung den Kaninchen zusammen mit den Amöben jeweils auch eine beträchtliche Menge von Bakterien mit eingespritzt wurde. Im Anschluß hieran sei noch auf das in Tabelle III (S. 148) als Versuch B bezeichnete Protokoll hingewiesen.

Auch bei diesem Versuch kam ein Immunserum zur Anwendung, das nicht nur den als Antigen verwandten Amöben, sondern auch ihren Futterbakterien homolog war, mithin eigentlich auch Komplement bindende Antikörper gegen letztere enthalten mußte. Wie jedoch die Röhrchen 11—14 erkennen lassen, waren derartige Bakterien-Antikörper nur in sehr geringer Menge vorhanden, was seine Erklärung wohl in dem Umstand finden dürfte, daß der von mir als St I bezeichnete Amöbenstamm seine Futterbakterien bei seinem Wachstum auf den Kulturplatten fast restlos vertilgte, so daß bei der Immunisierung mit diesem Amöbenstamm den Kaninchen nur relativ kleine Mengen der Futterbakterien eingespritzt wurden, die Bildung von Bakterien-Antikörpern also nicht beträchtlich sein konnte.

Nachdem ich durch eine Reihe von Versuchen, von denen die oben besprochenen nur einige Beispiele geben sollen, festgestellt hatte, daß die Immunsera Antikörper gegen die bei ihrer Herstellung verwandten Amöben- und Bakterienarten enthielten,

Tabelle III.

Röhrchen Nr.	Menge und Art des Serums		Komplement	Antigen	Ergebnis der Hämolyse nach 24 Stunden
			Versuch A.		
	ccm				
1	0,03		0,1 ccm Meerschw.-Kompl.	H IV Ko-Amöbe	0
2	0,01	H II y-Serum	0,1 „ „ „	„ „	+
3	0,003		0,1 „ „ „	„ „	+
4	0,001		0,1 „ „ „	„ „	+ +
5		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
6	0,03	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
7	0,01	Normalserum	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
8	0,03	H II y-Serum	0,1 „ „ „	—	+ + + +
9	0,01		0,1 „ „ „	—	+ + + +
10		—	0,1 „ „ „	—	+ + + +
11	0,03		0,1 „ „ „	Koli-Bakterien	+ + + +
12	0,01		0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
13	0,003	H II y-Serum	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
14	0,001		0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
15		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
16	0,03		0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
17	0,01	Kaninchen-	0,1 „ „ „	—	+ + + +
18	0,03	Normalserum	0,1 „ „ „	—	+ + + +
19	0,01		0,1 „ „ „	H II Ko-Amöbe	+ + + +
20	0,03		0,1 „ „ „	„ „	0
21	0,01		0,1 „ „ „	„ „	+
22	0,003	H II y-Serum	0,1 „ „ „	„ „	+ +
23	0,001		0,1 „ „ „	„ „	+ +
24		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
25	0,03	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
26	0,01	Normalserum	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
			Versuch B.		
1	0,03		0,1 ccm Meerschw.-Kompl.	St I Ko-Amöben	0
2	0,01	St I Ko-Serum	0,1 „ „ „	„ „	0
3	0,003		0,1 „ „ „	„ „	0
4	0,001		0,1 „ „ „	„ „	0
5		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + +
6	0,03	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	+
7	0,01	Normalserum	0,1 „ „ „	„ „	+ + +
8	0,03	St I Ko.-Serum	0,1 „ „ „	—	+ + + +
9	0,01		0,1 „ „ „	—	+ + + +
10		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
11	0,03		0,1 „ „ „	Koli-Bakterien	+ + +
12	0,01		0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
13	0,003	St I Ko-Serum	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
14	0,001		0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
15		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
16	0,03		0,1 „ „ „	„ „	+ + +
17	0,01	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	+ + +
18	0,03	Normalserum	0,1 „ „ „	—	+ + + +
19	0,01		0,1 „ „ „	—	+ + + +
20	0,03		0,1 „ „ „	H I Ko-Amöben	+ +
21	0,01		0,1 „ „ „	„ „	+ +
22	0,003	St I Ko-Serum	0,1 „ „ „	„ „	+ + +
23	0,001		0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
24		—	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
25	0,03	Kaninchen-	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +
26	0,01	Normalserum	0,1 „ „ „	„ „	+ + + +

blieb noch die Frage zu entscheiden, inwieweit sich eventuell bei der Komplement bindenden Wirkung eines solchen Immunserums ein Übergreifen auch auf andere Amöbenstämme feststellen ließ, die nicht zur Herstellung des betreffenden Immunserums gedient hatten, und auf Grund morphologischer Befunde entweder als identisch mit oder als verschieden von dem zur Immunisierung benutzten Amöbenstamm anzusehen waren. Ein Beispiel je eines mit morphologisch gleichartigen und morphologisch verschiedenen Amöbenstämmen ausgeführten Komplement-Bindungsversuches geben die in Tabelle III angeführten Versuchsprotokolle: Bei dem Versuch A kam ein mit dem Amöbenstamm H II hergestelltes Immunserum, sowie als Antigen außer dem diesem Serum homologen Amöbenstamm H II (Röhrchen 20—26) noch ein von mir als H IV bezeichneter Amöbenstamm zur Anwendung, über dessen Herkunft oben berichtet wurde, und den ich, wie gleichfalls oben bereits erwähnt, auf Grund morphologischer und kultureller Eigenschaften als artgleich mit dem Amöbenstamm H II ansehen zu müssen glaubte. Wie nun aus dem in Tabelle III als Versuch A bezeichneten Protokoll hervorgeht, bewirkte der Amöbenstamm H IV mit dem dem Amöbenstamm H II homologen Immunserum (Röhrchen 1—4) eine noch etwas stärkere Hemmung der Hämolyse als der dem betreffenden Immunserum homologe Amöbenstamm H II, während in sämtlichen übrigen Röhrchen eine vollständige Hämolyse festzustellen war. Die Annahme, daß die beiden Amöbenstämme H II und H IV, die von verschiedener Herkunft waren, sich aber morphologisch und kulturell gleichartig verhielten, der gleichen Amöben**art** angehörten, wurde mithin durch das übereinstimmende Ergebnis der mit den beiden Stämmen angestellten Komplement-Bindungsversuche als richtig erwiesen. Im Gegensatz zu diesem Versuch wurde der zweite in Tabelle III angeführte, mit B bezeichnete Versuch mit zwei Amöbenstämmen (H I und St I) angestellt, die auf Grund ihres morphologischen und kulturellen Verhaltens als **nicht** artgleich angesprochen werden mußten. Wie das Protokoll zeigt, ergaben sich zwar bei Verwendung des dem Amöbenstamm St I homologen Immunserums hinsichtlich der Komplementbindung deutliche Unterschiede zwischen den beiden Amöbenstämmen insofern, als der dem Immunserum homologe Amöbenstamm St I in allen zur Anwendung gelangenden Immunserum-Verdünnungen vollständige Hemmung der Hämolyse veranlaßte (Röhrchen 1 bis 4), während durch den Amöbenstamm H I mit demselben Immunserum eine wesentlich schwächere Hämolysehemmung hervorgerufen wurde (Röhrchen 20—23). Ein gewisses Übergreifen der Wirkung des St I-Immunserums auf den morphologisch und kulturell von dem Stamme St I deutlich verschiedenen Amöbenstamm H I ist jedoch nicht zu verkennen, so daß also nach meinen bisherigen Erfahrungen die Komplementbindung **allein** eine scharfe serologische Differenzierung verschiedener Amöbenarten nicht in jedem Falle gestattet. Wesentlich günstiger waren dagegen in dieser Hinsicht die von mir mit verschiedenen Amöbenstämmen angestellten Agglutinationsversuche, die im folgenden Abschnitt eingehend besprochen werden sollen.

3. Agglutinationsversuche.

Bei meinen mit Amöben unternommenen Agglutinationsversuchen war ich zunächst in der Weise vorgegangen, daß ich in sog. **Uhlenhuth**schen Röhrchen

jeweils 0,25 ccm fallender Immun- und Normalserumverdünnungen mit der gleichen Menge einer Aufschwemmung von Amöben mit ihren Futterbakterien in 0,85 %iger Kochsalzlösung versetzte, die Röhrchen nach einstündigem Aufenthalt bei 37° mit bloßem Auge und mit der Lupe betrachtete, Präparate zur mikroskopischen Kontrolle anfertigte und den Sedimentierungsvorgang beobachtete. Während bei diesem Vorgehen in den mikroskopischen Immunserumpräparaten eine Agglutination der Amöben in den höheren Serumkonzentrationen meist deutlich erkennbar war, ergab die Betrachtung der Röhrchen mit bloßem Auge und mit der Lupe keine klaren Bilder, welche die etwaige Agglutination der Amöben ausgesprochen hervortreten ließen. Es machte sich nämlich einmal in den Immunserumröhrchen, welche außer den Amöben auch diejenige Bakterienart enthielten, welche dem zur Immunisierung benutzten Amöbenstamm als Nahrung gedient hatte, die gleichzeitig eintretende Bakterienagglutination insofern störend bemerkbar, als eine Unterscheidung der aus agglutinierten Bakterien bestehenden Klümpchen von etwa vorhandenen Amöbenklümpchen mit bloßem Auge und meist auch mit der Lupe nicht möglich war. Dazu kam noch, daß namentlich bei den größeren Amöben (z. B. H I) die Amöben-Bakterienaufschwemmung bei makroskopischer Betrachtung infolge der relativ erheblichen Größe der Amöben in sämtlichen Röhrchen ein so „körniges" Aussehen zeigte, daß auch in den Immunserumröhrchen, welche neben den Amöben eine dem Serum nicht homologe Bakterienart enthielten, den Kontrollröhrchen gegenüber eine etwaige Agglutination der Amöben nicht deutlich erkennbar war. Mit Hilfe der Lupe ließen sich zwar gewisse Unterschiede zwischen Immun- und Normalserum feststellen, die aber in der Regel so gering waren, daß sie nur einem geübten Beobachter eine sichere Beurteilung des Befundes erlaubten. Wurde nicht nur für die Serumverdünnung, sondern auch für die Aufschwemmung der Amöben statt 0,85 %iger 0,6 %ige Kochsalzlösung benutzt, so traten die Unterschiede bei Lupenbetrachtung zwar etwas deutlicher hervor, doch war auch in solchen Fällen längere Übung zu ihrer sicheren Erkennung notwendig. Auch bei der Sedimentierung zeigten die Sedimentbilder in den spezifisches Serum enthaltenden Röhrchen gegenüber den mit Normalserum beschickten Röhrchen nicht so scharfe Unterschiede, wie bei der Bakterienagglutination, weil auch in den Kontrollröhrchen die Amöben Neigung dazu zeigten, nicht wie die Bakterien ein knopfförmiges Sediment zu bilden, sondern sich mehr in Form eines flächenhaften Häutchens abzusetzen.

Bei meinen weiteren Versuchen habe ich daher diese Technik verlassen und bin dazu übergegangen, die Agglutinationsversuche ausschließlich im „hängenden Tropfen" anzustellen. Es wurde dabei von fallenden Immun- und Normalserumverdünnungen in 0,85 %iger Kochsalzlösung je ein Tropfen auf ein Deckglas gebracht, darin mit der Platinöse eine kleine Menge Amöbenkultur unmittelbar von der Platte verrieben, die Deckgläschen auf hohlgeschliffene Objektträger übertragen, das Präparat sofort nach seiner Herstellung zunächst mit der Lupe und dann unter dem Mikroskop untersucht und bei Zimmertemperatur weiter beobachtet. Bei dieser Technik ließ sich schon mit bloßem Auge und bei Lupenbetrachtung ähnlich wie bei der orientierenden Bakterienagglutination, das Auftreten einer Amöbenagglutination sehr schnell und deutlich feststellen, namentlich wenn der den „hängenden Tropfen" enthaltende

Objektträger unmittelbar nach der Herstellung des Präparates langsam hin- und herbewegt wurde. Während anfangs unmittelbar nach der möglichst sorgfältigen Verreibung des Materials alle Tropfen übereinstimmend bei Betrachtung gegen einen dunklen Untergrund ein gleichmäßig graues Aussehen zeigten, trat in den Tropfen, welche das den verriebenen Amöben homologe Immunserum enthielten, schon bald, und zwar meist schon nach einigen Sekunden, längstens nach etwa $^1/_2$—1 Minute, eine ausgesprochene Körnchen-, Flocken- und schließlich Klumpenbildung ein, die mit der Lupe genau verfolgt werden konnte; dagegen behielten die das heterologe Immunserum, Normalserum oder Kochsalzlösung enthaltenden Tropfen unverändert ihr gleichmäßig graues Aussehen. Auch bei Betrachtung unter dem Mikroskop ließ sich die Bildung anfangs kleiner, mit der Zeit immer größer werdender Amöbenzusammenballungen verfolgen. Bemerkenswert ist noch, daß unmittelbar nach dem Einreiben der Amöben in die Serumtropfen bei den zu den Agglutinationsversuchen benutzten Serumverdünnungen, ähnlich wie bei den Lysisversuchen, eine Abkugelung der Amöben eintrat, die jedoch in der Folge, im Gegensatz zu den bei den Lysisversuchen gemachten Beobachtungen, nicht zu einer Enzystierung der Amöben führte. Um eine solche zu veranlassen, bedarf es offenbar stärkerer Serumkonzentrationen, als sie bei den Agglutinationsversuchen zur Anwendung kamen. Auffallend war, daß in den aus abgekugelten und daher aktiv nicht beweglichen Amöben bestehenden Verklumpungen sich anfangs, kurz nach Beginn der Verklumpung, trotzdem eine ziemlich lebhafte Bewegung der Amöben bemerkbar machte, durch welche dieselben in ihrer gegenseitigen Lage untereinander verschoben wurden, ohne daß aber der Zusammenhang der Amöben verloren ging. Diese Bewegung kam jedoch sehr bald zum Stillstand; worauf sie beruhte, habe ich nicht feststellen können.

Die beschriebene Zusammenballung der Amöben trat am schnellsten und deutlichsten in den stärkeren Konzentrationen des der verriebenen Amöbenart homologen Immunserums ein, in denen schon nach kurzer Zeit fast alle Amöben zu Klumpen von z. T. beträchtlicher Größe zusammengeballt und einzeln liegende kaum noch vorhanden waren. Je schwächer die zur Herstellung des „hängenden Tropfens" verwandten Immunserumkonzentrationen waren, um so langsamer ging die Klumpenbildung vor sich; gleichzeitig nahm der Umfang der entstehenden Klumpen ab, ihre Zahl jedoch, ebenso wie die der freiliegenden Amöben, zu, d. h. es bildeten sich im Vergleich zu den höheren Immunserumkonzentrationen zahlreichere, aber nur aus wenigen Amöben bestehende Klumpen, indem mit abnehmender Konzentration ein ständig zunehmender Teil der Amöben nicht in die Klumpen einbezogen wurde, bis schließlich von einer für jedes Immunserum feststellbaren, mehr oder weniger schwachen Konzentration ab eine Verklumpung der Amöben überhaupt nicht mehr stattfand. In den mit heterologem Immunserum, Normalserum oder 0,85%iger Kochsalzlösung hergestellten Präparaten konnte eine derartige Verklumpung der Amöben auch unter dem Mikroskop nicht festgestellt werden, vielmehr lagen die Amöben in solchen Präparaten einzeln gleichmäßig durch den ganzen Tropfen verteilt. Nur bei dem von mir als H II bezeichneten Amöbenstamm, der sich anfangs in keiner Hinsicht von meinen übrigen Amöbenstämmen unterschieden hatte, zeigten später,

nachdem er längere Zeit auf Agarplatten gezüchtet worden war, auch in heterologem Immunserum, Normalserum und 0,85 %iger Kochsalzlösung die Amöben unmittelbar nach dem Einreiben in den „hängenden Tropfen" eine Neigung zur Zusammenballung. Auf diese Beobachtung wird unten noch näher eingegangen werden.

Die stärkste Verklumpung der Amöben im homologen Immunserum war regelmäßig nach einigen Minuten eingetreten und hielt sich dann bei der bei Zimmertemperatur erfolgenden Weiterbeobachtung der einzelnen Präparate im allgemeinen bis zu 2—3 Stunden in ungefähr gleicher Stärke. Nach Ablauf dieser Zeit, häufig aber auch schon früher, machte sich jedoch in den die verklumpten Amöben enthaltenden Immunserumpräparaten eine Veränderung in der Weise geltend, daß die Amöben zunächst in den schwächeren Immunserumkonzentrationen ihr kugeliges Aussehen verloren, wieder Kriechform annahmen, Pseudopodien auszustrecken und wieder auseinander zu kriechen begannen, so daß nach einiger Zeit die Amöbenklumpen ganz oder doch zum großen Teil verschwunden waren. Je stärker die Konzentration des Immunserums war, um so später traten diese Veränderungen auf, so daß bei manchen Versuchen in den stärksten Serumkonzentrationen erst nach 5—6 Stunden die Zusammenballung der Amöben aufgehoben war.

Die Einwirkung eines Amöbenimmunserums auf die ihm homologe Amöbenart zeigt sich also in einer je nach der Konzentration des Immunserums stärkeren oder schwächeren Verklumpung der infolge von Abkugelung aktiv unbeweglich gewordenen Amöben, die jedoch nicht dauernd bestehen bleibt, sondern sich durch Auseinanderkriechen der nach einiger Zeit wieder in die Kriechform übergehenden Amöben allmählich wieder auflöst. Es dürfte wohl nicht zweifelhaft sein, daß es sich dabei um eine echte Immunitätserscheinung handelt, die der Bakterienagglutination zu vergleichen ist. Allerdings ist der Vorgang anderseits aber der durch spezifische Immunsera veranlaßten Agglomeration von Trypanosomen und Spirochaeten besonders ähnlich, bei denen die Agglomeration ebenfalls nur vorübergehend, während einer gewissen Zeit bestehen bleibt, nach deren Ablauf die einzelnen Agglomerationshaufen sich durch Auseinandergehen der Trypanosomen resp. Spirochaeten wieder auflösen.

Die Auflösung der Amöbenverklumpungen beginnt, wie bereits erwähnt, damit, daß die zunächst abgekugelten Amöben wieder ihre normale Kriechform annehmen, und zwar ist das zunächst bei den an der Peripherie der Klumpen liegenden Amöben der Fall. Die wieder aktiv beweglich gewordenen Amöben schlagen dann in der Regel sehr bald zentrifugale Kriechrichtung ein und lösen sich infolgedessen von den Klumpen los, wobei häufig ihr noch am Klumpen festklebendes Hinterende zu einem langen, immer dünner werdenden Faden ausgezogen wird, der schließlich unmittelbar am Klumpen loßreißt und dann wieder in die Plasmamasse der Amöbe eingezogen wird. Allmählich lösen sich immer mehr Amöben von den Klumpen los, so daß die so in Auflösung begriffenen Klumpen nach einiger Zeit ein ganz charakteristisches Aussehen zeigen: rings um einen noch fest zusammengeballten Klumpen abgekugelter, unbeweglicher Amöben streben zahlreiche, bereits wieder in die Kriechform übergegangene Amöben zentrifugal nach allen Richtungen auseinander. Auf diese Weise

verschwinden allmählich in allen Präparaten innerhalb verschieden langer Zeit sämtliche Amöbenklumpen, und nur in starken Immunserumkonzentrationen, bis etwa zu einer Verdünnung von 1 : 10, finden sich dauernd zusammengeballte Amöben, was in der Hauptsache wohl damit zu erklären ist, daß in diesen starken Serumkonzentrationen eine Enzytierung der verklumpten Amöben stattfindet, die eine Auflösung der Klumpen durch Auseinanderkriechen der Amöben unmöglich macht. Die beschriebene Auflösung der Agglutinationshaufen konnte ich auch dadurch verhindern, daß ich die Amöben, bevor ich sie in die Serumtropfen brachte, etwa 3—5 Minuten lang der Einwirkung von Chloroformdämpfen aussetzte, indem ich in den Deckel einer Amöbenkulturplatte ein mit Chloroform getränktes Stück Filtrierpapier legte. Die so vorbehandelten Amöben ballten sich im homologen Immunserum ebenso, wenn auch etwas langsamer zusammen wie die normalen, lebenden Amöben, wurden jedoch nicht wieder aktiv beweglich, und eine Auflösung der Klnmpen unterblieb infolgedessen.

Ein etwas anderes Verhalten, als es bisher geschildert wurde, zeigte hinsichtlich der Zusammenballung, wie bereits erwähnt, der von mir als H II bezeichnete Amöbenstamm: Während bei meinen ersten Versuchen mit diesem Amöbenstamm nur im homologen Immunserum eine Verklumpung der Amöben stattfand, sah ich bei späteren Versuchen ebenfalls gleich nach dem Einreiben der Amöben in den „hängenden Tropfen“ eine gewisse Zusammenballung der Amöben in allen Serumarten und Verdünnungen eintreten, die jedoch hinsichtlich ihrer Stärke in der Regel hinter der im homologen Serum zurückblieb, immerhin aber die Unterscheidung der mit homologen Serumverdünnungen von den nicht mit homologem Serum hergestellten Präparaten zunächst stark erschwerte. Daß es sich dabei aber nicht um einen der spezifischen Zusammenballung der Amöben gleichzusetzenden Vorgang handelte, ging aus dem Verhalten der Amöben hervor, wie es bei der weiteren Beobachtung dieser Präparate zutage trat. Es zeigte sich nämlich, daß schon kurze Zeit, zuweilen schon ½—1 Minute nach dem Auftreten der Amöbenverklumpung im heterologen Immunserum, sowie in Normalserum und 0,85 %iger Kochsalzlösung eine Lockerung dieser Klumpen stattfand, die zu einer mehr „flächenhaften“ Ausbreitung der vorher „körperlichen“ Klumpen führte, eine Erscheinung, die übrigens auch bei der Auflösung der durch spezifisches Immunserum zusammengeballten Amöbenklumpen beobachtet wurde. Aus diesen flächenhaften Ansammlungen, in welchen also die Amöben in einer Ebene dicht aneinander lagen, lösten sich dann die einzelnen Amöben in der oben beschriebenen Weise allmählich los, so daß meist schon nach Verlauf von etwa einer halben Stunde die Verteilung der Amöben in den betreffenden Präparaten eine ebenso gleichmäßige war, wie sie in den Kontrollpräparaten der anderen Amöbenstämme von vornherein beobachtet wurde. Die bei dem Amöbenstamm H II ebenso wie bei den übrigen Amöben auch im homologen Immunserum stattfindende Auflösung der Amöbenklumpen ging dagegen wesentlich langsamer vor sich, so daß auch bei diesem Amöbenstamm etwa 1—1½ Stunden nach der Herstellung der Präparate ein deutlicher Unterschied zwischen dem Verhalten der Amöben im homologen Immunserum einerseits und in heterologem Immunserum, Normalserum und 0,85 %iger Kochsalzlösung anderseits zu erkennen war. Bei dem hier beschriebenen abweichenden Verhalten

meines Amöbenstammes H II dürfte es sich wohl um einen der Spontanagglutination der Bakterien analogen Vorgang handeln. Es scheint mithin bei gewissen Amöbenstämmen, ähnlich wie das auch bei Bakterien der Fall ist, wenn sie längere Zeit hindurch auf Agarplatten gezüchtet werden, eine Neigung zur Spontanagglutination zu entstehen, durch die jedoch das Erkennen einer spezifischen Immunserumwirkung nicht völlig unmöglich gemacht, sondern nur erschwert wird.

Die nachstehende Tabelle IV gibt eine Übersicht über das agglutinatorische Verhalten je eines typisch (a) und spontan (b) agglutinierenden Amöbenstammes. In dieser ebenso wie in den folgenden die Agglutination betreffenden Tabellen bedeutet + starke Agglutination, (+) schwache, aber noch deutlich erkennbare Agglutination. Beide Teile der Tabelle IV lassen deutlich den allmählichen Rückgang der Agglutination erkennen, der am frühesten sich in den schwächsten Serumkonzentrationen geltend macht; aus Tabelle IVb ist außerdem die während der ersten Stunde nach Herstellung der Präparate vollständig zurückgehende Spontanagglutination des Amöbenstammes H II ersichtlich.

Tabelle IV.

a) Agglutination des Amöbenstammes H I in verschiedenen Seren.

Seit Herstellung der Präparate verflossene Zeit	H I-Serum 1:100	H I-Serum 1:200	H I-Serum 1:400	H I-Serum 1:800	H I-Serum 1:1000	H II-Serum 1:100	Normalserum 1:100	Physiologische Kochsalzlösung
1 Minute	+	+	+	+	—	—	—	—
1 Stunde	+	+	+	(+)	—	—	—	—
2 Stunden	+	+	(+)	—	—	—	—	—
3 „	+	(+)	—	—	—	—	—	—
5 „	(+)	—	—	—	—	—	—	—

b) Agglutination des Amöbenstammes H II in verschiedenen Seren.

Seit Herstellung der Präparate verflossene Zeit	H II-Serum 1:100	H II-Serum 1:200	H II-Serum 1:400	H II-Serum 1:800	H II-Serum 1:1600	H II-Serum 1:2000	H I-Serum 1:100	Normalserum 1:100	Physiologische Kochsalzlösung
1 Minute	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)
1 Stunde	+	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—
2 Stunden	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—
3 „	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—
5 „	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—

Von dem bisher ausschließlich geschilderten Verhalten nicht encystierter Amöben im homologen Immunserum unterscheidet sich das der Amöbencysten insofern, als letztere durch das homologe Amöbenimmunserum nicht agglutiniert wurden. Zwar findet man häufig auch Cysten zu mehreren oder vielen eng beieinander liegend, doch ist das wahrscheinlich schon darauf zurückzuführen, daß die Amöbencysten bereits

auf den Kulturplatten zum großen Teil in größeren oder kleineren Ansammlungen dicht beieinander liegen und sich beim Einreiben in den „hängenden Tropfen“ nur schwer oder gar nicht voneinander trennen lassen. Es sind jedoch von mir auch noch in der Richtung Versuche aufgenommen worden, ob sich eine spezifische Einwirkung auf Amöbencysten bei solchen Seris feststellen läßt, welche mit Amöbencysten allein hergestellt sind.

Da bei dem von mir zur Anwendung gebrachten Immunisierungsverfahren den Kaninchen mit den Amöben meist auch eine mehr oder weniger beträchtliche Menge der den Amöben als Futter dienenden Bakterien (Bact. coli, Ruhr y-Bakterien) eingespritzt wurde, so enthielten die auf solche Weise hergestellten Immunsera naturgemäß auch Agglutinine gegen die betreffende Bakterienart. Die Zusammenballung der Amöben ging in der Regel unabhängig von der ihrer Futterbakterien vor sich: Wurde also z. B. in einem Tropfen Immunserum der diesem Serum homologe Amöbenstamm und mit ihm seine ebenfalls dem betreffenden Serum homologen Futterbakterien verrieben, so trat neben der Amöbenagglutination auch eine Agglutination der Bakterien ein, und zwar, wie die mikroskopische Betrachtung zeigte, so, daß außer den fast ausschließlich aus Amöben bestehenden Klumpen sich solche bildeten, die nur Bakterien enthielten. Dagegen blieb eine Agglutination der Bakterien aus, wenn zwar der in dem Immunserum verriebene Amöbenstamm, nicht aber seine Futterbakterien dem betreffenden Serum homolog waren. Die Höhe, bis zu welcher eine Beeinflussung eines Amöbenstammes und seiner Futterbakterien durch ein beiden homologes Immunserum festgestellt werden konnte, war nicht selten ungefähr gleich; doch kamen auch Fälle zur Beobachtung, in welchen die Bakterien bis zu einer niedrigeren oder höheren Titergrenze beeinflußt wurden als die Amöben, denen sie zur Nahrung dienten. Diese Verschiedenheit ist wohl z. T. mit eine Folge des Umstandes, daß, wie schon oben gelegentlich der Komplementbindungsversuche erwähnt, die verschiedenen Amöbenstämme ihre Futterbakterien nicht in gleich vollständiger Weise aufzuzehren pflegten, so daß bei der Immunisierung den Kaninchen verschieden große Mengen von Bakterien einverleibt wurden, was naturgemäß auch einen verschieden hohen Agglutinationstiter für die Futterbakterien bedingte. Wie Tabelle Va (S. 156) zeigt, war bei den Stämmen H II Ko und H II y der Agglutinationstiter für Amöben und Futterbakterien gleich hoch, bei H I Ko und H I y wurden die Amöben bis zu einem niedrigeren Titer agglutiniert als die Bakterien, während bei St I Ko das Verhältnis umgekehrt war.

Wie oben bei den Komplementbindungsversuchen erwähnt, war auch der Gehalt an Komplement bindenden Antikörpern gegen die homologe Bakterienart bei dem H I-Serum ziemlich beträchtlich, bei dem St I-Serum dagegen nur gering (vgl. Tabelle II und III B).

Aus dem Umstande, daß ein Immunserum den ihm homologen Amöbenstamm und die ihm ebenfalls homologe Bakterienart in verschieden hohem Maße beeinflussen kann, geht bereits hervor, daß die Immunsera sowohl für die Amöben, als auch für die Bakterien jeweils besondere Agglutinine enthalten. Es schien mir aber doch von Interesse festzustellen, wie sich die Sera im einzelnen Fall bei Abbindung einerseits

Tabelle Va.

Agglutinatorisches Verhalten verschiedener Amöbenstämme und ihrer Futterbakterien in homologem und heterologem Immunserum, sowie in Normalserum und 0,85%iger Kochsalzlösung.

Serumart und Nummer	Serumverdünnung	Amöben- und Bakterienart	Agglutination der		Serumart und Nummer	Serumverdünnung	Amöben- und Bakterienart	Agglutination der	
			Amöben	Bakterien				Amöben	Bakterien
H I Ko (201)	1/100	H I Ko	+	+	H I y (202)	1/100	H I y	+	+
desgl.	1/200	„	+	+	desgl.	1/200	„	+	+
desgl.	1/400	„	+	+	desgl.	1/400	„	+	+
desgl.	1/800	„	(+)	+	desgl.	1/800	„	(+)	+
desgl.	1/1600	„	—	+	desgl.	1/1600	„	—	(+)
desgl.	1/3200	„	—	(+)	desgl.	1/3200	„	—	—
H I y (202)	1/100	„	+	—	H I Ko (201)	1/100	„	+	—
H II Ko (252)	1/100	„	—	+	H II Ko (252)	1/100	„	—	—
H II y (253,1)	1/100	„	—	—	H II y (253,1)	1/100	„	—	+
St I Ko (148)	1/100	„	—	+	St I Ko (148)	1/100	„	—	—
M I Ko (161)	1/100	„	—	+	M I Ko (161)	1/100	„	—	—
Normalserum	1/100	„	—	—	Normalserum	1/100	„	—	—
Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—	Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—
H II Ko (252)	1/100	H II Ko	+	+	H II y (253,1)	1/100	H II y	+	+
desgl.	1/200	„	+	+	desgl.	1/200	„	+	+
desgl.	1/400	„	+	+	desgl.	1/400	„	+	+
desgl.	1/800	„	+	+	desgl.	1/800	„	+	+
desgl.	1/1600	„	(+)	(+)	desgl.	1/1600	„	(+)	(+)
desgl.	1/3200	„	—	—	desgl.	1/3200	„	—	—
H II y (253,1)	1/100	„	+	—	H II Ko (252)	1/100	„	+	—
H I Ko (201)	1/100	„	—	+	H I Ko (201)	1/100	„	—	—
H I y (202)	1/100	„	—	—	H I y (202)	1/100	„	—	+
St I Ko (148)	1/100	„	—	+	St I Ko (148)	1/100	„	—	—
M I Ko (161)	1/100	„	—	+	M I Ko (161)	1/100	„	—	—
Normalserum	1/100	„	—	—	Normalserum	1/100	„	—	—
Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—	Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—
St I Ko (148)	1/100	St I Ko	+	+	M I Ko (161)	1/100	M I Ko	+	+
desgl.	1/200	„	+	+	desgl.	1/200	„	+	+
desgl.	1/400	„	+	—	desgl.	1/400	„	+	+
desgl.	1/800	„	+	—	desgl.	1/800	„	+	+
desgl.	1/1600	„	+	—	desgl.	1/1600	„	+	(+)
desgl.	1/3200	„	—	—	desgl.	1/3200	„	(+)	—
H I Ko (201)	1/100	„	—	+	H I Ko (201)	1/100	„	—	+
H I y (202)	1/100	„	—	—	H I y (202)	1/100	„	—	—
H II Ko (252)	1/100	„	—	+	H II Ko (252)	1/100	„	—	+
H II y (253,1)	1/100	„	—	—	H II y (253,1)	1/100	„	—	—
M I Ko (161)	1/100	„	—	+	St I Ko (148)	1/100	„	—	+
Normalserum	1/100	„	—	—	Normalserum	1/100	„	—	—
Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—	Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—

mit der homologen Bakterienart allein, und anderseits mit der homologen Amöbenart in Gemeinschaft mit einer dem betreffenden Serum heterologen Bakterienart verhielten. Die nachstehende Tabelle VI gibt als Beispiele die Protokolle zweier derartiger Versuche.

Tabelle VI.

a) Abbindung eines H I Ko-Serums mit Koli-Bakterien.

Serumart und Nr.	Serum-verdünnung	Amöben- und Bakterienart	Amöbenagglutination		Bakterienagglutination	
			vor der Abbindung	nach der Abbindung	vor der Abbindung	nach der Abbindung
H I Ko (201)	1/20	H I Ko	+	+	+	+
desgl.	1/50	"	+	+	+	+
desgl.	1/100	"	+	+	+	—
desgl.	1/200	"	+	+	+	—
desgl.	1/400	"	+	(+)	+	—
desgl.	1/800	"	(+)	—	+	—
desgl.	1/1600	"	—	—	+	—
desgl.	1/3200	"	—	—	(+)	—

b) Abbindung eines H I y-Serums mit H I Ko-Amöben.

Serumart und Nr.	Serum-verdünnung	Amöben- und Bakterienart	Amöbenagglutination		Bakterienagglutination	
			vor der Abbindung	nach der Abbindung	vor der Abbindung	nach der Abbindung
H I y (202)	1/20	H I Ko	+	+	+	+
desgl.	1/50	"	+	(+)	+	+
desgl.	1/100	"	+	—	+	+
desgl.	1/200	"	+	—	+	+
desgl.	1/400	"	+	—	+	+
desgl.	1/800	"	(+)	—	+	+
desgl.	1/1600	"	—	—	+	—
desgl.	1/3200	"	—	—	—	—

Es ist aus dieser Tabelle ersichtlich, daß nach Abbindung eines Immunserums mit der dem Serum homologen Futterbakterienart (Tabelle VI a) die Amöben noch gut agglutiniert werden, während der Agglutinationstiter des Serums für die betreffende Bakterienart stark zurückgegangen ist. Umgekehrt erfahren nach Abbindung mit einer die homologe Amöbenart, aber heterologe Bakterien enthaltenden Aufschwemmung (Tabelle VI b) nur die Amöbenagglutinine eine starke Verminderung, während die Bakterienagglutinine verhältnismäßig wenig beeinflußt werden.

Von ganz besonders großer Wichtigkeit war nun aber noch die Beantwortung der Frage, ob die in einer Zusammenballung sich äußernde Beeinflussung der Amöben durch das ihnen homologe Immunserum spezifisch ist, oder ob, wie bei den Komplement bindenden Antikörpern, ein Übergreifen von einer Amöbenart auf andere stattfindet. Von den sehr zahlreichen Versuchen, die ich in dieser Hinsicht angestellt habe, gibt

Tabelle V a nur einige Beispiele, aus welchen hervorgeht, daß ein solches Übergreifen nicht stattfindet, daß vielmehr die Zusammenballung der Amöben eine deutlich spezifische Wirkung des Immunserums ist. Eine Zusammenballung der verschiedenen Amöbenstämme wurde nur in den ihnen homologen Immunseren beobachtet, dagegen nicht in den heterologen Immunserum- und Normalserumverdünnungen und in 0,85%iger Kochsalzlösung. Nur einer meiner Amöbenstämme machte, wie die Tabelle V b zeigt, von dieser Regel scheinbar eine Ausnahme. Der Amöbenstamm H IV wurde nämlich durch das mit dem Amöbenstamm H II hergestellte Immunserum bis zu der gleichen Titergrenze agglutiniert, wie der dem Immunserum homologe Amöbenstamm H II. Wie oben gesagt, waren die beiden Stämme zwar zu verschiedenen Zeiten aus verschiedenen Heuaufgüssen gezüchtet worden, stimmten jedoch morphologisch, sowie in ihrem kulturellen Verhalten genau überein, so daß schon auf Grund dieser Übereinstimmung der Schluß nahelag, daß die beiden Amöbenstämme artgleich waren. Dieser Schluß wird nun durch den Ausfall des Agglutinationsversuches mit dem Amöbenstamm H IV in vollstem Maße bestätigt, indem nicht nur der Stamm H IV durch H II-Immunserum, sondern umgekehrt auch der Stamm H II durch ein mit dem Stamm H IV hergestelltes Immunserum bis zur Titergrenze ($^1/_{1000}$) agglutiniert wird. Es ist also, wie diese Versuche zeigen, möglich, die Artgleichheit zweier Amöbenstämme verschiedener Herkunft, nicht nur auf Grund morphologischer Untersuchungen, sondern auch mit Hilfe des in der Bakteriologie zu dem gleichen Zweck so vielfach angewandten Agglutinationsversuches nachzuweisen.

Tabelle V b.

Agglutinatorisches Verhalten des Amöbenstammes H IV Ko in verschiedenen Immunseren, Normalserum und 0,85%iger Kochsalzlösung.

Serumart und Nummer	Serum-verdünnung	Amöben- und Bakterienart	Agglutination der		Serumart und Nummer	Serum-verdünnung	Amöben- und Bakterienart	Agglutination der	
			Amöben	Bakterien				Amöben	Bakterien
H II Ko (252)	$^1/_{100}$	H IV Ko	+	+	H II y (253,1)	$^1/_{100}$	H IV Ko	+	—
desgl.	$^1/_{200}$	„	+	+	desgl.	$^1/_{200}$	„	+	—
desgl.	$^1/_{400}$	„	+	+	desgl.	$^1/_{400}$	„	+	—
desgl.	$^1/_{800}$	„	+	+	desgl.	$^1/_{800}$	„	+	—
desgl.	$^1/_{1600}$	„	(+)	(+)	desgl.	$^1/_{1600}$	„	(+)	—
desgl.	$^1/_{3200}$	„	—	—	desgl.	$^1/_{3200}$	„	—	—
H I Ko (201)	$^1/_{100}$	„	—	+	St I Ko (148)	$^1/_{100}$	„	—	+
H I y (202)	$^1/_{100}$	„	—	—	M I Ko (161)	$^1/_{100}$	„	—	+
Normalserum	$^1/_{100}$	„	—	—	Kochsalzlösung	0,85 %	„	—	—

Interessant war es, daß zwei andere von meinen Amöbenstämmen, H V und M I, die im Leben sowohl hinsichtlich ihrer Morphologie, als auch hinsichtlich ihres kulturellen Wachstums, das oben beschrieben wurde, durchaus gleich erschienen, in

ihrem agglutinatorischen Verhalten insofern verschieden waren, als der Stamm H V durch M I-Immunserum und umgekehrt der Stamm M I durch ein mit H V hergestelltes Immunserum in keiner Weise beeinflußt wurde. Diese Beobachtung veranlaßte mich zu einer etwas eingehenderen morphologischen Untersuchung der beiden anscheinend gleichen Amöbenstämme in gefärbten Präparaten, welche zu dem Ergebnis führte, daß doch auch gewisse morphologische Unterschiede zwischen den beiden Stämmen bestehen: Es ließ sich nämlich bei dem Amöbenstamm H V im Kern ein sogenannter Randkörper nachweisen, der bei dem Stamm M I nicht gefunden wurde. Da nun nach unseren bisherigen Kenntnissen über Amöbensystematik das Vorhandensein oder Fehlen eines solchen Randkörpers wohl als Artmerkmal angesehen werden muß, so können die beiden Amöbenstämme H V und M I nicht als artgleich angesehen werden. Es wurde also in diesem Fall das Ergebnis des Agglutinationsversuches durch das Ergebnis der genaueren morphologischen Untersuchung bestätigt.

Jedenfalls sprechen meine bisher ja allerdings nur mit einer beschränkten Anzahl von Stämmen durchgeführten Versuche nach den geschilderten Beobachtungen dafür, daß eine spezifische Beeinflussung verschiedener Amöbenstämme durch agglutinierende Immunsera stattfindet, und daß sich mit Hilfe dieser spezifischen Beeinflussung wahrscheinlich die Artgleichheit, sowie auch die etwaige Verschiedenheit einzelner Amöbenstämme feststellen läßt. Sollte letzteres sich in vollem Umfange als richtig erweisen, so würde die Agglutination der Amöben für die bisher nur auf Grund morphologischer und entwicklungsgeschichtlicher Untersuchungen mögliche Differenzierung verschiedener Amöbenarten ein ähnlich brauchbares Hilfsmittel werden können, wie es die Bakteriologie in der spezifischen Bakterienagglutination bereits seit längerer Zeit besitzt.

4. Phagocytoseversuche.

Während die Versuche zum Nachweis agglutinierend wirkender Antikörper gegen Amöben in den Immunseris zu den oben eingehend geschilderten positiven Befunden geführt hatten, lieferten die von mir mit verschiedenen Amöbenstämmen und den ihnen homologen Immunseren angestellten Versuche zum Nachweis Phagocytose befördernder Antikörper bisher keine eindeutig klaren Ergebnisse. Ich ging bei diesen Versuchen im Anschluß an die von Neufeld für den Nachweis von Opsoninen und Bakteriotropinen angegebene Technik in folgender Weise vor: Ein Meerschweinchen wurde mit einer Aleuronataufschwemmung in Bouillon intraperitoneal behandelt und am folgenden Tage getötet. Die durch Ausspülen der Bauchhöhle mit 0,85%iger Kochsalzlösung gewonnene Leukocytenaufschwemmung wurde mehrmals, jedesmal etwa 5 Minuten lang, langsam zentrifugiert und die überstehende Kochsalzlösung abgegossen und durch frische ersetzt. Sodann wurden 7 Röhrchen in der in Tabelle VII zusammengestellten Weise mit Leukocytenaufschwemmung, Amöbenaufschwemmung und Immun- resp. Normalserumverdünnung beschickt.

Tabelle VII.

Beschickung der Röhrchen bei den Phagocytoseversuchen.

Röhrchen Nr.	Amöben-aufschwemmung	Leukocyten-aufschwemmung	0,85 %ige Kochsalzlösung	Homologes Amöben-Immunserum		Kaninchen-Normalserum	
				1/20	1/50	1/20	1/50
1	2 Tropfen	—	3 Tropfen	—	—	—	—
2	—	2 Tropfen	"	—	—	—	—
3	2 Tropfen	"	1 Tropfen	—	—	—	—
4	"	"	—	—	—	1 Tropfen	—
5	"	"	—	—	—	—	1 Tropfen
6	"	"	—	1 Tropfen	—	—	—
7	"	"	—	—	1 Tropfen	—	—

Sofort, ½ und 1 Stunde nach dem Ansetzen des Versuches wurden sodann mittels Kapillaren Proben aus den einzelnen Röhrchen entnommen und auf Deckgläschen ausgestrichen. Die Ausstriche fixierte ich, ehe sie trocken waren, etwa 1 Minute mit Osmiumdämpfen, wusch sie nach dem Trockenwerden mit 50%igem Alkohol aus und färbte sie nach Giemsa. Die mikroskopische Durchsicht mehrerer auf diese Weise hergestellter Präparatenreihen ergab nun, daß große Amöben, wie z. B. mein Amöbenstamm H I, überhaupt nicht phagocytiert wurden, woran wohl hauptsächlich der Umstand schuld war, daß die Amöben die Leukocyten an Größe ziemlich beträchtlich übertrafen. Bei den mit kleinen Amöben, z. B. meinem Amöbenstamm H II, angestellten Phagocytoseversuchen fand sich dagegen Phagocytose deutlich und ziemlich häufig stark ausgesprochen. Die Phagocytose war aber in diesen Fällen nicht nur auf die Röhrchen beschränkt, welche außer Amöben und Leukocyten das den Amöben homologe Immunserum enthielten, sondern sie fand sich ebenso auch in den Kontrollröhrchen mit Normalserum und 0,85%iger Kochsalzlösung. Deutlich ausgesprochene Unterschiede zwischen den Immunserumröhrchen und den Kontrollröhrchen hinsichtlich der Zahl der phagocytierten Amöben waren dabei nicht festzustellen. Offenbar werden kleinere Amöben von Leukocyten allein schon so stark aufgenommen, daß durch diese normaler Weise eintretende Phagocytose der Nachweis Phagocytose befördernder Antikörper in den Immunseren bei der von mir verwandten Technik außerordentlich erschwert, wenn nicht unmöglich gemacht wird.

Auch meine Versuche zum Nachweis präzipitierender Antikörper in den Immunseris haben bisher zu klaren Ergebnissen noch nicht geführt, weil die Gewinnung ausreichend Amöbeneiweiß enthaltender Extrakte ebenfalls gewisse Schwierigkeiten bietet. Die Versuche werden von mir noch weitergeführt.

5. Agglutinationsversuche mit Flagellatenstadien von Amöben.

Wie oben bereits erwähnt wurde, wandelten sich zwei meiner Amöbenstämme, wenn sie von der Kulturplatte in Leitungswasser übertragen wurden, nach Verlauf von etwa 2—3 Stunden in zweigeißelige Flagellatenstadien um. Es war nun von be-

sonderem Interesse, diese Flagellatenstadien zu den Untersuchungen ebenfalls heranzuziehen und die Einwirkung der mit den Amöben hergestellten Sera auch auf diese Formen zu beobachten. Bisher konnte ich allerdings mit derartigen Flagellatenstadien nur eine beschränkte Anzahl von serologischen Versuchen anstellen, die aber doch schon darauf hinweisen, daß auch die Flagellaten ebenfalls von dem Immunserum beeinflußt werden, das dem Amöbenstamm homolog ist, aus welchem die Flagellatenstadien hervorgegangen sind. So wurden bei wiederholten Versuchen die von den M I-Amöben gebildeten Flagellaten, von dem mit M I-Amöben hergestellten Immunserum jeweils in der Weise beeinflußt, daß sie sofort gelähmt wurden, ihre sonst sehr lebhaften Bewegungen einstellten und sich ebenfalls je nach der Stärke der Immunserumkonzentration zu größeren oder kleineren Klumpen zusammenballten. Besonders auffallend war es ferner, daß dabei die Flagellaten, wie sich unter dem Mikroskop gut verfolgen ließ, bald nach ihrer Übertragung in die homologen Immunserumverdünnungen sich unter Einziehung ihrer Geißeln wieder in Amöben umwandelten, die schließlich in derselben Weise, wie dies oben schon für die agglutinierten Amöben beschrieben war, wieder auseinander- und umherzukriechen begannen. Im Normalserum blieben dagegen die Flagellaten zunächst längere Zeit unverändert beweglich und wurden nicht zusammengeballt. Die Rückbildung der Flagellaten zu Amöben kam allerdings späterhin auch in dem Normalserum zustande, aber in den bisherigen Versuchen gegenüber dem homologen Immunserum erheblich später und in verzögerter Weise. Die von dem Amöbenstamm H V gebildeten Flagellaten wurden im Gegensatz zu den M I-Flagellaten durch das dem Amöbenstamm M I homologe Immunserum in keiner Weise beeinflußt, sie blieben vielmehr in dem heterologen Immunserum und im Normalserum vollkommen gleich beweglich und zeigten auch keine Zusammenballung. Das Ergebnis dieses Versuches mit den beiden Flagellatenstämmen ist auch insofern von Interesse und bemerkenswert, als es im Einklang steht mit dem Ausfall des oben erwähnten Agglutinationsversuches mit den beiden entsprechenden Amöbenstämmen und die Verschiedenheit der beiden Amöbenarten ebenfalls bestätigt. Nach den Ergebnissen dieser Versuche *werden somit die von einzelnen Amöbenstämmen gebildeten Flagellatenstadien durch ein mit den betreffenden Amöben hergestelltes Immunserum ebenfalls spezifisch beeinflußt.* Durch weitere Versuche unter Heranziehung noch von anderen, Flagellaten bildenden Amöbenstämmen wird aber noch genauer festzustellen sein, ob die beschriebene Rückverwandlung der Flagellaten wieder in Amöben unter dem Einfluß des homologen Immunserums gegenüber heterologem und Normalserum regelmäßig so ausgesprochen schneller erfolgt, daß auch dieser Vorgang als eine besondere unter dem Einfluß des Immunserums auftretende Reaktionserscheinung aufzufassen ist.

Literatur.

1. Beyerinck, Kulturversuche mit Amöben auf festem Substrat. In: Zentralblatt für Bakteriologie usw. Abt. 1, Bd. 19, 1896.

2. Celli und Fiocca, Beiträge zur Amöbenforschung. In: Zentralblatt für Bakteriologie usw. Abt. 1, Bd. 15, 1894.

3. Coca, A. F., The Separation of Protozoon Species by means of Immunity Reactions. In: Zeitschr. f. Immunitätsforschung, I. Teil, Orig., Bd. 12, 1912.

4. Frosch, Zur Frage der Reinzüchtung der Amöben. In: Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. I, Bd. 21, 1897.

5. Jollos, V., Untersuchungen zur Morphologie der Amöbenteilung. In: Archiv für Protistenkunde, Bd. 37, 1917.

6. Mouton, Recherches sur la digestion chez les amibes et sur la diastase intracellulaire. In: Annales de l'Institut Pasteur, Bd. 16, 1902.

7. Oehler, R., Amöbenzucht auf reinem Boden. In: Archiv für Protistenkunde, Bd. 37, 1917.

8. Roeßle, R., Spezifische Sera gegen Infusorien. In: Archiv f. Hygiene, Bd. 54, 1905.

9. Takenouchi, M., Cytolytic action of normal and immune Serum on infusoria. In: Journ. of Infect. Diseases, Bd. 23, 1918.

10. v. Wasielewski und Kühn, Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes. In: Zoolog. Jahrbücher, Abt. f. Anat. usw., Bd. 38, 1914.

11. Walker, The parasitic amebae of the intestinal tract of man and other animals. In: Journ. of Med. Research, Bd. 17 u. 18, 1908.

12. Wülker, G., Die Technik der Amöbenzüchtung. In: Zentralblatt für Bakteriologie usw., Abt. I, Referate, Bd. 50, 1911.

Beiträge zur Biologie von Argas persicus Wldh.

Von

Dr. Margarete Zuelzer,
Ständiger Mitarbeiterin im Reichsgesundheitsamte.

I. Mitteilung.

(Hierzu Tafel 5 und 6.)

A I. Einleitung.

Die Biologie der blutsaugenden Insekten gewinnt wegen der Bedeutung dieser Tiere als Krankheitsüberträger immer mehr an Interesse. Auch geringfügige und scheinbar nebensächliche Vorgänge im Leben dieser Tierarten erlangen jetzt im Hinblick auf ihre epidemiologische Rolle und ihre Bekämpfung einige Wichtigkeit. Die am Menschen schmarotzenden Arten sind experimentell nicht ganz leicht zu bearbeiten, weil ihre Züchtung in großem Maßstabe mit Schwierigkeiten verknüpft ist und das biologische Bild der Art durch die Versuchsverhältnisse nicht unbeeinflußt bleibt. Daher ist es vielleicht von Interesse, die biologischen Verhältnisse einer Art genau zu verfolgen, die, wie Argas persicus Wldh., den Bedingungen der künstlichen Züchtung gegenüber wenig empfindlich ist.

Diese Zeckenart hat in Laboratorien bereits seit langem als Versuchstier für die Übertragung von Spirochaeten gedient; trotzdem sind Einzelheiten im Entwicklungsgange der Art und im Leben des einzelnen Tieres noch nicht in der genauen Form bekannt, wie sie es bei der begründeten Zunahme des Interesses an diesen Dingen verdienen. Ich habe mich daher mit der Biologie dieses Blutsaugers besonders im Hinblick auf die Nahrungsaufnahme eingehend beschäftigt und will im folgenden eine Darstellung meiner Befunde geben. Da natürlich viele Tatsachen auf diesem Gebiete schon lange bekannt sind, ließ es sich nicht vermeiden, daß neben neuen biologischen Einzelheiten in dieser Arbeit auch bekannte Dinge erwähnt werden. Genauere Beobachtungen über die Entwicklung, besonders deren Beziehung zur Nahrungsaufnahme und, wie im zweiten Teil dieser Arbeit gezeigt werden wird, über die Verarbeitung

des beim Blutsaugen aufgenommenen artfremden Eiweißes und über die Verschiedenheiten des Eiweißes der einzelnen Entwicklungsstadien, schienen mir wichtig genug, die Biologie dieses blutsaugenden Parasiten zusammenzustellen.

Argas persicus, im Volksmunde auch persische Wanze genannt, schmarotzt auf Hühnern, Enten, Gänsen, Perlhühnern, und ist als Überträger der Spirochaetenkrankheit des Geflügels gefürchtet. Gelegentlich soll Argas persicus auch Menschen anfallen. Die Art ist fast allgemein verbreitet, sie kommt in allen außereuropäischen Erdteilen vor, und soll sich auch gelegentlich in Rußland finden. Ein naher Verwandter des Argas persicus, dessen Lebensgang im wesentlichen mit der hier in Rede stehenden Art übereinstimmt, Argas reflexus, kommt in Mitteleuropa vor. Er lebt in Taubenschlägen und ist ein gefürchteter Parasit der Tauben. Eine andere, Argas persicus nahestehende Art, Ornithodorus moubata, lebt in Afrika; sie befällt den Menschen und ist der Überträger der Spirochaeta duttoni, des Erregers der afrikanischen Recurrens.

2. Technische Vorbemerkungen.

Argas persicus liebt Trockenheit und Wärme. Bei der künstlichen Aufzucht ist eine Temperatur von ca. 26° für das Gedeihen der Tiere die optimale. Bei 37° werden die Zecken sehr unruhig und gehen ein, wenn sie längere Zeit bei solcher Temperatur gehalten werden; bei 42° sterben sie sehr bald ab.

Ich züchtete die Tiere in 8 cm hohen, $3^1/_2$ cm weiten Pulverflaschen, welche mit Gaze zugebunden wurden. Diese Zuchtbehälter fanden ihren Platz auf einem Thermostaten von 37°, im Winter natürlich im geheizten Raume, oder in einem Brutschrank von 26°; so lebten die Tiere im Sommer und Winter ungefähr bei gleicher Temperatur.

Der Boden der Gläser wurde mit feinem, trockenem Sande bedeckt, außerdem gab ich in die Gläser einige Stücke trockenes, lose zusammengeballtes Filtrierpapier, in dessen Falten sich die Tiere gern verkriechen. Die Fütterung der Zecken erfolgte durch Blutsaugen am Huhn, seltener an der Taube und am Meerschweinchen. Die erwachsenen Zecken setzte ich an ein gefesseltes Huhn, dem an der Brust einige Federn ausgerissen wurden, frei an, nur einzelne unruhige Tiere wurden zur Fütterung in einem 4 cm hohen, $2^1/_2$ cm weiten Glaszylinder auf die Brusthaut des Huhnes aufgesetzt. Die Tiere beißen im allgemeinen leichter an, wenn man die Haut des Huhnes etwas anfeuchtet. Für besondere Zwecke wurden gefesselte Meerschweinchen zur Fütterung benutzt und für die Aufzucht der Larven Tauben verwendet. Die geeignete Haltung, und besonders die Fütterung der Larven ist für das Gedeihen eines Kulturstammes des Argas persicus von größter Bedeutung und das Schwierigste an der ganzen Zucht. Auf die diesbezüglichen technischen Einzelheiten wird weiter unten eingegangen werden.

B. Die geschlechtsreifen Tiere.

Die erwachsenen Zecken sitzen meistens bewegungslos an einer möglichst dunklen Stelle ihres Behälters. Sie sind lichtscheu und sehr träge, so daß sie auch auf direkte Belichtung nur langsam und schwer reagieren. Das Aussehen der Tiere ist vom

Füllungszustande ihres Darmes abhängig. Hungrige Zecken sind graubraun, frisch gefütterte Tiere braunrot. Zwischen diesen beiden Extremen finden sich alle Übergänge. Auf die Anatomie und Morphologie der Zecken, die gut bekannt ist, soll hier im allgemeinen nicht eingegangen werden; ich verweise in dieser Hinsicht auf die Arbeiten von Christophers, Dönitz und Nuttal.

Wichtig für die Züchter ist aber die Untersuchung der Geschlechter bei den Zecken. Männchen und Weibchen unterscheiden sich äußerlich zunächst durch die Form des porus genitalis. Die breite, schlitzförmige Geschlechtsöffnung des Weibchens liegt zwischen den Basen des ersten Beinpaares (Tafel 5, Fig. 6), beim Männchen ist der kleinere, mehr rundliche auf einer ovalen weißlichen Papille gelegene Porus genitalis etwas nach hinten gerückt (Tafel 5, Fig. 3). Aber nicht nur durch die Form der Geschlechtsöffnung unterscheiden sich die Geschlechter, wie Dönitz meint, sondern es ist wie bei sehr vielen Arachnoiden auch bei Argas persicus ein ausgeprägter allgemeiner Geschlechtsdimorphismus vorhanden. Ausgewachsene geschlechtsreife Zeckenweibchen sind erheblich größer, breiter und gedrungener (Tafel 5, Fig. 4) als die schmaleren, mehr langgestreckten Männchen (Tafel 5, Fig. 1). Die Größe der Weibchen schwankt von 10 mm Länge : 6,5 mm Breite bis zu 7,2 mm Länge : 5,1 mm Breite; kleine Weibchen von 6 mm : 4 mm können als Ausnahme gelten.

Die Männchen dagegen haben nur eine durchschnittliche Körperlänge von 6,5 mm : 4,2 mm; sie sind in ihrer Größe konstanter als die Weibchen; nur selten kommen geschlechtsreife Männchen von 5 mm : 3 mm Größe vor.

1. Die Nahrungsaufnahme.

Es ist bekannt, daß Argas persicus sehr lange dauerndes Hungern verträgt. Ich ließ einige Tiere vom 3. Dezember 1918 bis 26. März 1919 ungefüttert. Danach sogen die Zecken wieder in normaler Weise. Es wird angegeben, daß Argas persicus jahrelanges Hungern vertrüge. Diese Angaben scheinen mir übertrieben. Tiere, die versehentlich $^3/_4$ Jahre ohne Nahrung belassen worden waren, lebten zwar noch, konnten aber nicht mehr zum Blutsaugen gebracht werden und gingen ein. — Gibt man ihnen Gelegenheit dazu, so saugen die Tiere alle drei bis vier Wochen Blut. Für das Gedeihen der Zucht ist es ratsam, die Nahrungsaufnahme in so kurzen Pausen vor sich gehen zu lassen. Auf die Bedeutung der Nahrungszufuhr für die Eiablage soll später in dem diesbezüglichen Abschnitt näher eingegangen werden.

Die hungrigen Tiere sind dorsoventral stark abgeplattet. Zur Fütterung wurden die Zecken auf ein gefesseltes Huhn gesetzt; sie pflegen dann nach kurzem Umherlaufen den Rüssel in die Haut des Wirtes einzustoßen und sich festzusaugen. Die graubraunen Tiere sitzen dabei flach auf dem Wirtstier. Das vordere Ende ist durch das Einstoßen des Rüssels in das Huhn nur etwas nach unten geneigt, der Hinterleib sehr wenig gehoben. Beim Saugen sieht man das Blut in den Darm einströmen und kann verfolgen, wie dasselbe den verästelten Darm erfüllt; der Darm wird hierdurch immer größer und erfüllt schließlich das ganze Tier. Auch die Form des Tierkörpers wird durch das Einströmen des Blutes verändert. Die Zecke wird tropfenförmig abgerundet, wie aufgeblasen und schließlich so prall mit Blut gefüllt, daß die Strukturen

der Körperoberfläche während des Saugens verstreichen, um nach und nach ganz zu verschwinden. Wenn die Tiere derartig vollgefüllt sind, fallen sie vom Wirte ab. Der Saugakt dauert 20 Minuten bis 1 Stunde. Beim Weibchen gewöhnlich etwas länger, bis 1½ Stunde. Das letztere hängt offenbar damit zusammen, daß die Weibchen größer sind als die Männchen.

Die Blutmenge, die eine Zecke bei einer Mahlzeit aufnimmt, ist sehr groß, sie beträgt etwa das fünffache ihres eigenen Körpergewichtes. So war das Körpergewicht eines Zeckenweibchens vor dem Saugen 0,012 g, nach dem Saugen 0,062 g. Das Gewicht eines anderen Tieres betrug vor dem Saugen 0,022 g, nachher 0,082. Ein Zeckenmännchen wog vor dem Saugen 0,007 g, dasselbe nach dem Saugen 0,03 g; ein anderes wog, bevor es gesogen hatte, 0,008 g, nachher 0,048 g.

2. Exkretion der Coxaldrüse.

Die vollgesogenen Tiere krabbeln schwerfällig umher, sie sind so prall gefüllt, daß, da die Falten, Warzen und Rillen der äußeren Körperoberfläche verschwunden sind, die Oberfläche der Tiere wie glatt gespannt erscheint. Nach dem Saugen wird von den Tieren in der Regel ein großer, wasserklarer Flüssigkeitstropfen ausgeschieden. Wärme (37°) beschleunigt diese Flüssigkeitsabgabe. Sind mehrere Tiere in einem engen Glas beisammen, so daß eines sich mit der Feuchtigkeit des anderen besudeln kann, so sehen die Zecken oft wie aus dem Wasser gezogen aus. Legt man die Tiere nach dem Saugen auf den Rücken, so dauert es etwas länger, bis die Flüssigkeit ausgeschieden wird, nur dann jedoch ist erkennbar, daß diese Flüssigkeit aus je einer runden kleinen Öffnung austritt, welche an der Basis des ersten Beinpaares liegen. Es sind dies die Mündungen der Coxaldrüsen. Bei dem auf dem Rücken liegenden Tiere bleiben die an der Basis des ersten Beinpaares austretenden wasserklaren Tropfen zwischen Beinpaar und Rüssel liegen; die beiden Tropfen fließen median über der Geschlechtsöffnung zu einem großen Tropfen zusammen. Beim Umherlaufen streifen die Tiere den Tropfen schnell ab. Erst nach der Ausscheidung dieses großen Tropfens Coxaldrüsenflüssigkeit erhalten die Tiere ihre normale dorsoventral abgeplattete Gestalt, und auch die Rillen und Warzen der Körperoberfläche treten wieder hervor. Mit dem Tropfen wird eine große Menge von Flüssigkeit abgegeben; er wiegt 0,010—0,011 g, also das volle Körpergewicht eines hungernden geschlechtsreifen Weibchens, ca. das ein- bis vierfache des Körpergewichts des hungernden geschlechtsreifen Männchens.

Um die Beschaffenheit des Drüsensekrettropfens zu prüfen, wurden 30 Zecken nach dem Saugen auf den Rücken gelegt und in die Wärme (37°) gebracht. Nun wurde der Austritt des Tropfens beobachtet und die Flüssigkeit sofort mit einer Capillare aufgesogen. Es wurde so eine große, spontan ausgeschiedene Flüssigkeitsmenge für die biologische Eiweißuntersuchung gewonnen. Zu dem Zwecke brachte ich etwa 0,3 ccm hochwertiges Hühnerantiserum vom Kaninchen in ein Capillarröhrchen und überschichtete das Serum vorsichtig mit etwa 0,2 ccm Coxaldrüsensekret, so daß das Drüsensekret, ohne sich mit dem Serum zu mischen, in der Capillare eine etwa 4 mm hohe Schicht über demselben bildete. Bereits nach einer halben Minute war

dann bei Zimmertemperatur an der Berührungszone der beiden Schichten ein Präzipitationsring von unzweifelhafter Deutlichkeit aufgetreten, während in den Kontrollröhrchen mit Normalserum keinerlei Reaktion eintrat. Es war damit der Beweis geliefert, daß nach dem Blutsaugen am Huhn in dem wasserklaren Drüsensekret von Argas persicus genuines Hühnereiweiß enthalten ist.

Die Entleerung des großen Tropfens bezweckt augenscheinlich, die Zecken von der aufgenommenen zu großen Flüssigkeitsmenge zu entlasten. Die Tiere sind sonst trocken und lieben die Trockenheit. So erstaunlich es vielleicht auch zunächst erscheinen mag, daß in dem Sekret einer tierischen Drüse artfremdes Eiweiß nachzuweisen ist, so dürfte dies wohl dadurch zu erklären sein, daß die Tiere offensichtlich nicht alles Hühnereiweiß zurückzuhalten und zu verdauen vermögen und somit bei der Flüssigkeitsabgabe auch solches Eiweiß unverändert die Drüsen passiert. Die Tropfenabgabe findet bei Argas persicus meistens erst nach vollendetem Saugakt statt. Diese Tatsache sowohl als auch der Nachweis von Hühnereiweiß in demselben, läßt wohl Christophers Mutmaßung, „die Coxaldrüsen scheiden eine alkalische Flüssigkeit aus, welche die Blutgerinnung verhütet", als unwahrscheinlich erscheinen. Wohl aber könnte das Coxaldrüsensekret bei Argas persicus, dem Überträger der Geflügelspirillose, vielleicht bei dem Mechanismus der Infektionsübertragung nach diesen Feststellungen eine gewisse Rolle spielen. Rocha Lima konnte zwar neuerdings nachweisen, daß Läuse unmittelbar durch den Stich beim Blutsaugen Recurrensspirochaeten zu übertragen vermögen. Der Mechanismus der Spirochaeteninfektion durch die Zecken ist aber in dieser Hinsicht noch nicht klargestellt. Doch vermuten Kleine und Eckard, welche ebenso wie Koch reichlich Teilungen der Recurrensspirochaeten innerhalb der Zecke Ornithodorus moubata nachweisen konnten, daß die Infektion nicht direkt durch den Zeckenbiß selbst, sondern durch Verunreinigung der Wunde mit spirochaetenhaltigem Sekret erfolgt. Die Auffassung würde durch den Nachweis, daß die Spirochaeten mit dem beim Saugen aufgenommenen Hühnerserum, welches vom Darm aus die ganze Zecke überschwemmt, nicht nur in der Zecke verbreitet, sondern auch durch die Coxaldrüsen wieder mit ausgeschieden werden können, eine gewisse Stütze erfahren. Untersuchungen nach dieser Richtung habe ich aufgenommen, doch war es mir bisher noch nicht möglich, bei Argas persicus im Coxaldrüsensekret bei mikroskopischen Untersuchungen im Dunkelfelde Spirochaeten nachzuweisen. Eine experimentelle Lösung dieser Frage durch die Verimpfung von Coxaldrüsensekret auf Hühner konnte ich aus äußeren Gründen bisher noch nicht herbeiführen. Gewisse Schwierigkeiten bezüglich der Vorstellung dieses Übertragungsmodus macht allerdings die Tatsache, daß Argas persicus im allgemeinen erst nach vollendetem Saugakt das Coxaldrüsensekret entleert [1]).

3. Faeces.

Bei vereinzelten Tieren unterblieb die Tropfenabgabe nach dem Saugen, und statt dessen schieden dieselben bereits 1—2 Stunden nach dem Saugen eine größere

[1]) Während der Drucklegung dieser Arbeit gelang es, mit isoliertem Coxaldrüsensekret von mit Recurrensspirochaeten infizierten Ornithodorus moubata eine Maus mit Recurrens zu infizieren. Das Genauere hierüber wird im zweiten Teil dieser Arbeit mitgeteilt werden.

Menge flüssigen Kots ab. Derselbe wurde sofort nach dem Ausscheiden mit Capillaren aufgefangen und vermittels präzipitierenden Hühnerantiserums, wie dies oben geschildert ist, ebenfalls auf den etwaigen Gehalt von Hühnereiweiß untersucht. Der Kot wurde hierfür etwa 1 : 20 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt; die Versuche fielen durchaus negativ aus; zur Kontrolle wurde dieselbe Lösung mit Kaninchennormalserum zusammengebracht, eine Präzipitationsbildung trat niemals ein. Offenbar wird das Eiweiß im Zeckendarm durch Verdauungsfermente denaturiert, wie dies auch unter normalen Verhältnissen im Verdauungskanal der Säugetiere der Fall ist. Zu gleichem Ergebnis führten auch die entsprechenden Versuche mit solchen Entleerungen, die später, längere Zeit nach dem Saugen abgesetzt wurden. Zu diesem Zwecke mußten erst ausreichende Kotmengen gesammelt werden. Es wurde deshalb, um solchen Kot in größeren Mengen untersuchen zu können, Filtrierpapier in die Zuchtgläser der Tiere eingelegt und nach einigen Wochen das mit eingetrocknetem Kot stark beschmutzte Papier in Kochsalzlösung mehrere Tage im Eisschrank ausgelaugt. Dann wurde das aufgeweichte Papier fein zerrieben, der Brei filtriert, und das Filtrat auf die Anwesenheit von Hühnereiweiß vermittels präzipitierendem Hühnerantiserum in derselben Weise untersucht, wie dies oben für das Coxaldrüsensekret geschildert wurde. Es wurde das unverdünnte Filtrat, außerdem Verdünnungen von 1 : 5 und 1 : 10 untersucht. Zur Kontrolle wurden dieselben Lösungen mit Normalkahinchenserum untersucht. Das Resultat war auch hierbei, wie erwähnt, in allen Fällen negativ. Hühnereiweiß war in keinem Falle mehr nachweisbar.

Nach den Versuchen findet sonach, trotz der enormen Aufnahme artfremden Eiweißes, bei der Verdauung im Darm ein völliger Abbau des Hühnereiweißes statt, während die überschüssigen Hühnereiweißmengen, welche der Darm nicht zu verdauen imstande ist, durch die Coxaldrüsen ausgeschieden werden, wobei diese jedoch anscheinend das artfremde Eiweiß einfach diffundieren lassen, ohne es abzubauen, und somit keine Organtätigkeit etwa im Sinne der Nierenfunktion ausüben.

4. Die Begattung.

Die Begattung findet etwa ½ Stunde bis 2 Stunden, gelegentlich noch etwas später nach dem Saugen und nach Abgabe des Tropfens Coxaldrüsensekrets statt. Erwärmen der Tiere bis auf 37° beschleunigt den Vorgang. Das lebhaft bewegliche Männchen kriecht dabei von hinten über das ziemlich lethargische Weibchen herüber oder unter demselben hindurch, wodurch das Weibchen in die Rückenlage kommt. In seltenen Fällen liegt das Weibchen bereits auf dem Rücken und das Männchen kriecht darauf. Jedenfalls befindet sich bei der Begattung das Weibchen immer in Rückenlage. Die Kopfenden der beiden Tiere sind einander zugekehrt. Das Männchen preßt die Palpen an die Bauchhaut des Weibchens und führt mit dem Rüssel ein weißes, dickwandiges, flaschenförmiges Spermatophor in die weibliche, breite, schlitzförmige Öffnung ein. Dabei sind die Beine des Männchens fest auf den Körperrand des Weibchens gepreßt. Zu vorderst liegt das erste Beinpaar des Männchens, zwischen jedem Beinpaar des Weibchens liegt weiterhin je ein Beinpaar des Männchens (Tafel 5, Fig. 7). Es gelang leicht, die Kopulation von Anfang bis zum Ende zu beobachten,

wenn man die isolierten Tiere nach dem Saugen in den Wärmeschrank von 37° stellte. Wurden nach dem Abscheiden des Coxaldrüsensekrettropfens je ein Männchen und ein Weibchen, die bis dahin einzeln gehalten worden waren, zusammengebracht, dann kopulierten die Tiere meistens nach wenigen Minuten. Die Dauer der Kopulation schwankt von 5—55 Minuten. Nach der Kopulation finden sich an der weiblichen Geschlechtsöffnung häufig Flüssigkeitsspuren, offenbar Sekretreste des Männchens. Außerdem liegt außen an der weiblichen Öffnung öfters noch als weißliches Schüppchen erkennbar die Hülle des Spermatophors, dessen Inhalt in die weibliche Geschlechtsöffnung entleert ist. Gelegentlich sind in derselben noch vereinzelte Spermatozoen nachweisbar.

Einzelne Männchen kopulieren aus nicht ersichtlichen Gründen nach dem Saugen nicht. Ich konnte aber beobachten, daß dieselben Männchen nach dem nächsten Saugen sofort die Begattung vollzogen. Anderseits sind einzelne Männchen gelegentlich sehr begattungslustig und können zur Befruchtung von zwei oder auch drei Weibchen nacheinander verwendet werden. Auch kann ein Weibchen direkt nacheinander von verschiedenen Männchen begattet werden. Wie oben schon gesagt, ist ein leichtes Erwärmen der Tiere auf 37° auch hierfür förderlich. Die Kopulation wird im Winter wie im Sommer ausgeführt; weder die Jahres- noch die Tageszeit hat dabei einen direkten Einfluß. Dagegen ist der Ernährungszustand der Tiere von ausschlaggebender Bedeutung. Die Kopulation erfolgt in den weitaus meisten Fällen gleich nach der Nahrungsaufnahme. Besonders die Weibchen sind unmittelbar nach der Nahrungsaufnahme am leichtesten zur Kopulation bereit. Bei Prüfung der Frage, ob vorherige Nahrungsaufnahme unbedingt zur Kopulation erforderlich ist, verhielten sich Männchen und Weibchen etwas verschieden. Wie noch näher besprochen werden wird, saugen die Weibchen unmittelbar nach jeder Eiablage begierig Blut. Weibchen, denen nach der Eiablage keine neue Gelegenheit zur Nahrungsaufnahme gegeben wird, kopulieren nicht. Die Kopulationsfähigkeit der Weibchen ist bis 2 Tage nach dem Saugen am größten. Kommt es in dieser Zeit zu keiner Kopulation, so beginnt das Weibchen dann bald von neuem Eier abzulegen, und eine erneute Kopulation erfolgt erst nach dem nächsten Saugen. Nur in zwei Fällen wurde beobachtet, daß die Weibchen noch 12 resp. 28 Tage nach dem Saugen kopulierten. Diese Weibchen aber hatten nach der Nahrungsaufnahme keine Eier gelegt, waren daher in der Verwertung der aufgenommenen Nahrung geschlechtsreifen Männchen ähnlicher als legenden Weibchen. Es ist verständlich, daß die Weibchen nach der Eiablage, bei welcher sie, wie unten näher ausgeführt ist, ein Vielfaches ihres Körpergewichtes abgeben, neu gefüttert sein müssen, ehe sie zu neuen Lebensäußerungen fähig sind. Anders verhalten sich die Männchen. Sie sind fähig, noch bis zu 38 Tagen nach dem Saugen die Kopulation auszuführen. Als Beispiel ist das Verhalten eines Männchens angeführt (Tabelle 1).

Die erste Paarung erfolgt ebenso wie bei den Wanzen auch bei den Zecken erst mehrere Tage nach der letzten Häutung, nach der die Tiere geschlechtsreif sind. Erst muß das Chitin der frisch gehäuteten Tiere völlig erstarrt sein. Gewöhnlich erfolgt die Kopulation auch dann noch nicht sofort nach dem ersten Saugen, sondern erst nach einer nochmaligen, zweckmäßig nach wenigen Tagen dargebotenen zweiten Mahlzeit. Ein genaues Beispiel hierfür ist in der Tabelle 11 im Anhang angeführt.

Tabelle 1.

Zeit zwischen Fütterung und Begattung beim ♂ Tier a	
Gefüttert	Begattet
25. 5.	—
—	2. 6.
12. 6.	12. 6.
—	17. 6.
26. 6.	—
4. 7.	4. 7.
24. 7.	—
—	1. 9.

5. Die Eiablage.

6—21 Tage nach der ersten Kopulation erfolgt die erste Eiablage. Ehe ein Zeckenweibchen mit der Eiablage beginnt, sitzt es fast lethargisch vollkommen still, die Palpen auswärts gerichtet. Die ersten Eier des Geleges werden einzeln in kleinen Zwischenräumen abgelegt. Das Weibchen pflegt dieselben mit dem ersten Beinpaar von der breiten, zwischen dem ersten Beinpaar gelegenen Geschlechtsöffnung unter dem Kopfende fort nach vorn zu schieben (Tafel 5, Fig. 8). Dann folgen mehrere Eier hintereinander, wobei die nachfolgenden die vorderen rein mechanisch nach vorn schieben, bis sie sich nach einigen Tagen zu einem Klumpen gehäuft haben (Tafel 5, Fig. 9 u. 10). Gegen das Ende der Ablage kommen die Eier wieder vereinzelt. Erst nach Beendigung des Vorgangs erwacht das Tier aus seinem lethargischen Zustand und wird wieder beweglich. Legt man das Tier während der Eiablage, um es besser beobachten zu können, auf den Rücken, so bleibt es ruhig liegen und legt weiter. Die Dauer einer Eiablage erstreckt sich auf mehrere Tage (Tabelle 2).

Tabelle 2.
Dauer der Eiablage eines Geleges.

	Tage	Tage	Tage	Tage
Tier a . . .	3	3	—	—
„ b . . .	4	6	—	—
„ d . . .	5	3	4	2
„ g . . .	6	2	3	—
„ h . . .	6	4	—	—

Die Zahl der Eier eines Geleges schwankt; sie ist vor allem abhängig von der Nahrungsaufnahme und vielleicht auch vom Zeitpunkt der Kopulation. Offenbar nimmt auch bei steigendem Alter der Zecke die Zahl der Eier ab. Doch bewahren die Zecken die Fähigkeit Eier zu produzieren während einer Reihe von Jahren. Ein Zeckenpärchen, die Stammeltern der gegenwärtigen Zucht, das unbekannten Alters Herbst 1915 ins Gesundheitsamt gekommen war, kopulierte noch im Mai 1919, und das Weibchen legte darnach 50 Eier ab (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Biologische Daten eines Zeckenpärchens nach 4jähriger Zucht.

Geschlechtsreif	1919 gefüttert	1919 begattet	1919 Eier abgelegt
♂ und ♀ 1915	26. 3. 27. 4.	26. 3. —	4. 4. 14. 5.

Die Eiablage ist abhängig von der Nahrungsaufnahme. Es werden um so mehr Eier produziert je häufiger man die Zecken füttert. Normalerweise erfolgt die Eiablage nach jeder Mahlzeit. Zwar erträgt auch das Weibchen von Argas persicus das Hungern monatelang, es legt aber während dieser Zeit keine Eier. Nach jeder Eiablage sind die Tiere wiederum zum Saugen bereit. Ich pflegte die Weibchen gleichzeitig mit dem zur Kopulation zu verwendenden Männchen an ein Huhn zum Saugen anzusetzen. An demselben Tage, an dem die Tiere gesogen hatten, kopulierten sie gewöhnlich. Vom Saugen bis zur Eiablage verstrichen 5 bis 14, durchschnittlich 7 Tage (Tabelle 4, S. 172).

Die Zeit zwischen Saugen und Eiablage ist im Sommer durchschnittlich kürzer als im Winter, obgleich die Tiere im Winter bei gleicher Temperatur gehalten wurden wie im Sommer. Die Frage, wieviel Eier ein Zeckenweibchen während seines Lebens produziert, vermag ich noch nicht zu beantworten, weil das älteste Weibchen meiner Zucht schon Eier legte (mindestens seit 1915), bevor ich es beobachtete, und noch jetzt (Herbst 1919) weiter legefähig ist. Die Zahl der abgelegten Eier schwankt sowohl bei den verschiedenen Tieren wie auch bei den verschiedenen Gelegen desselben Tieres. Es wurden 25—267 Eier bei einem Gelege gezählt. Durchschnittlich legt ein Zeckenweibchen bei einem Gelege gegen 100 Eier. Jedes Ei wiegt 0,00011 g, also legen die Zeckenweibchen, welche im ungefütterten Zustande 0,012—0,022 g wiegen, wenn ein Gelege 275 Eier zählt, eine Gewichtsmenge an Eiern ab, welche das doppelte des Körpergewichtes des Tieres übersteigt. Man erzielt eine solche erhöhte Legetätigkeit, wenn man die Tiere, sobald sie mit dem Legen fertig sind, saugen läßt. Wie oben erwähnt, beginnen die Tiere regelmäßig durchschnittlich bereits 6—7 Tage nach dem Saugen mit der Eiablage, worauf es vermutlich auch beruht, daß sie nach dieser Zeit nach dem Saugen nicht mehr kopulieren. Neben der Häufigkeit der Nahrungsaufnahme steht auch deren Quantität mit der Fruchtbarkeit des Weibchens in direktem Zusammenhange. Prall vollgesogene Zecken legen mehr Eier als solche, die wenig Blut bei einer Mahlzeit aufnehmen.

Aber auch die Qualität der Nahrung ist auf die Eiablage von größtem Einfluß, So ließ ich zeitweise bestimmte Zecken an Meerschweinchen saugen. Die Tiere beißen gut an und sind ebenso wie beim Huhn auch am Meerschweinchen nach 40 Minuten bis $1^1/_2$ Stunden vollgesogen. Nun hielt ich die Tiere jahrelang am Meerschweinchen gefüttert am Leben. Ich kann also die Mutmaßung von Dönitz und Lounsbury, Argas persicus vertrüge nicht beliebiges Blut, sondern sei auf Geflügelblut eingestellt, da die von diesen Autoren unternommenen Fütterungsversuche an weißen Mäusen resp.

Tabelle 4.

Fütterung	Begattung	Eiablage	Ergebnis an den Eiern	Fütterung	Begattung	Eiablage	Ergebnis an den Eiern
Pärchen a.				**Pärchen d.**			
15.3. ♀ + ♂ +	15.3.	21.3.—26.3.	befruchtete Eier	15.3. ♀ + ♂ +	—	17.3.—24.3.	befruchtete Eier
26.3. ♀ + ♂ +	26.3.	28.3.—31.3.	desgl.	26.3. ♀ + ♂ +	26.3	31.3.—5.4.	desgl.
30.4. ♀ + ♂ +	30.4.	—	—	27.4. ♀ + ♂ +	27.4.	6.5.—9.5.	desgl.
19.5. ♀ + ♂ +	19.5.	—	—	10.5. ♀ + ♂ +	—	12.5.—23.5.	desgl.
23.5. ♀ + ♂ +	—	30.5.—2.6.	befruchtete Eier	23.5. ♀ + ♂ +	—	30.5.—2.6.	desgl.
				2.6. ♀ + ♂ +	2.6.	10.6.	desgl.
2.6. ♀ + ♂ —	2.6.	10.6.	desgl.	12.6. ♀ + ♂ —	—	17.6.—21.6.	desgl.
12.6. ♀ + ♂ —	12.6.	16.6.	desgl.	21.6. ♀ + ♂ +	—	25.6.	desgl.
17.6. ♀ + ♂ —	17.6.	21.6.—25.6.	desgl.	26.6. ♀ + ♂ +	26.6.	30.6.—9.7.	desgl.
26.6. ♀ + ♂ +	—	27.6.	desgl.	18.7. ♀ + ♂ —	18.7.	5.8.	desgl.
4.7. ♀ + ♂ +	4.7.	9.7.	desgl.	5.8. ♀ + ♂ —	—	11.8.	desgl.
24.7. ♀ + ♂ +	—	5.8.	desgl.				
5.8. ♀ + ♂ —	—	23.8.	desgl.				
1.9. ♀ + ♂ —	1.9.	—	—				
23.9. ♀ gestorben				23.8. ♀ gestorben			
Pärchen g.				**Pärchen b.**			
15.3. ♀ + ♂ +	15.3.	17.3.—26.3.	befruchtete Eier	15.3. ♀ + ♂ +	15.3.	24.3.—26.3.	befruchtete Eier
26.3. ♀ + ♂ +	26.3.	1.4.—3.4.	desgl.	26.3. ♀ + ♂ +	—	27.3.—14.4.	desgl.
28.4. ♀ + ♂ —	28.4.	5.5.—8.5.	desgl.	28.4. ♀ + ♂ +	28.4.	12.5.	desgl.
9.5. ♀ + ♂ +	9.5.	12.5.—22.5.	desgl.	13.5. ♀ + ♂ +	13.5.	—	—
23.5. ♀ + ♂	—	30.5.—2.6.	desgl.	23.5. ♀ + ♂ +	23.5.	—	—
2.6. ♀ + ♂ —	—	7.6.	desgl.	26.6. ♀ + ♂ +	—	9.7.	befruchtete Eier
7.6. ♀ + ♂ +	—	16.6.—21.6.	desgl.	14.7. ♀ — ♂ —		31.7.	
21.6. ♀ + ♂ +	—	—	—				
26.6. ♀ + ♂ +	—	2.7.	befruchtete Eier				
4.7. ♀ + ♂ +	—	9.7.—18.7.	desgl.				
30.7. ♀ + ♂ +	30.7.	11.8.	desgl.				
11.8. ♀ + ♂ —	11.8.	23.—28.8.	desgl.				
30.8. ♀ + ♂ +	30.8.	12.—22.9.	desgl.				
22.9. ♀ + ♂ +	—	—	—				
23.10. ♀ + ♂ +	—	—	—				
				11.8. ♀ gestorben			

an Menschen den Tod der benützten Zecken veranlaßten, wenigstens für die Ernährung mit Meerschweinchenblut nicht bestätigen.

Wohl aber ist die Fruchtbarkeit derartig gefütterter Tiere sehr stark herabgemindert. So wurden z. B. am 13. 12. 18. 5 Zecken an Meerschweinchen gefüttert. Von diesen Tieren legte nur eines am 5. Januar 1919, also erst nach 22 Tagen, Eier. Nach erneuter Fütterung am 17. 1. erfolgte keine Eiablage. Bei mehrfach unternommenen Fütterungsversuchen bissen die Tiere nicht an. Erst eine erneute Fütterung am 4. 4. hatte nach 11 Tagen bei einem Weibchen am 15. 4. Eiablage im Gefolge. Nach

einer erneuten Fütterung am Meerschweinchen am 7. Mai erfolgte am 24. Mai die Eiablage, danach abermalige Fütterung mit nachfolgender Befruchtung. Eier wurden nun nicht mehr abgelegt; auch nach erneuter Fütterung am 1. Juli (vorher bissen die Tiere nicht an) kam es bisher noch zu keiner erneuten Eiablage. Diese Angaben zeigen, wie stark die Fruchtbarkeit von Zecken, welche mit Meerschweinchenblut gefüttert werden, herabgemindert ist. Während Argas persicus normalerweise nach Fütterung am Huhn jedesmal durchschnittlich nach 7 Tagen legt, wird die Eiablage nach Meerschweinchenfütterung entweder unterdrückt oder aber stark verzögert. Die Eier sind jedoch im großen ganzen entwicklungsfähig. Doch wurden bei den Eiablagen gelegentlich auch Eier abgelegt, die bald nach der Ablage vertrockneten, ein Zeichen, daß sie trotz vorhergegangener Befruchtung keine volle Lebensfähigkeit besaßen, was vielleicht auf eine geringere Ausnutzbarkeit des Säugetiereiweißes durch die Zecke zurückzuführen ist. Die Anpassung des Argas persicus an das Geflügelblut ist allerdings nicht absolut, da es gelingt, die Tiere auch durch Saugen am Meerschweinchen am Leben zu erhalten. Wohl aber macht sich ihr Einfluß in bezug auf die normale Fruchtbarkeit der Tiere in entsprechender Weise geltend. Denn die Versuche zeigen, daß die Qualität der Nahrung für die Eiablage von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Wie oben erwähnt, kann nach jedesmaliger Fütterung die Kopulation und dann gewöhnlich nach mehreren Tagen die Eiablage eintreten. Unterbleibt die Fütterung jedoch, so erfolgt, so lange die Tiere hungern, weder Kopulation noch Eiablage. Sobald aber die Weibchen wieder gesogen haben, legen sie wieder nach der normalen Zeit die übliche Anzahl Eier, und zwar auch ohne daß eine erneute Kopulation vorangegangen ist. Eine frühere Befruchtung muß demnach offenbar monatelang — solange hatte ich die Hungerperiode ausgedehnt — vorhalten können. Die Versuche zur Feststellung, wie lange eine Befruchtung überhaupt vorhält, sind noch nicht abgeschlossen, doch erfolgte bei Weibchen, welche kopuliert hatten und darauf monatelang isoliert und regelmäßig gefüttert worden waren, die Eiablage entwicklungsfähiger Eier nach meinen bisherigen Beobachtungen bis zu 6 Monaten nach der letzten Begattung (Tabelle 5 und Tabelle 5a). Es hat dabei aber den Anschein, als ob bei den Eiablagen unmittelbar nach der Kopulation mehr Eier abgelegt würden als bei den Eiablagen, die schon längere Zeit nach der Kopulation erfolgen, wenn sich auch bei diesen die Eier entwicklungsfähig zeigten. Fernerhin wurde die Frage, ob zur Eiablage Befruchtung überhaupt notwendig ist, geprüft. Zu diesem Zwecke wurden von einem aus dem Ei gezüchteten Gelege je ein einzelnes Weibchen und je ein Pärchen vor der letzten Häutung isoliert. Nach der letzten Häutung sog das Pärchen zweimal Blut. Nach der zweiten Mahlzeit erfolgte die Kopulation, nach 23 Tagen die Eiablage (Tabelle 11 im Anhang). Das isolierte Weibchen sog dreimal Blut. Eine Eiablage erfolgte bei diesem Weibchen nicht. Es ist bemerkenswert, daß dieses Weibchen, das keine Eier ablegte, auch viel seltener zur Nahrungsaufnahme bereit war als das gleichaltrige befruchtete Weibchen, das, wie aus der Tabelle 11 ersichtlich ist, regelmäßig Eier legte.

Tabelle 5.

Einfluß der Nahrungsaufnahme auf die Eiablage; Dauer der Befruchtung.

5 Weibchen, welche am 30. 1. gesogen hatten und nach erfolgter Begattung isoliert gehalten wurden.

	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen
Tier q . . .	60	24	keine Eier	15	keine Eier	10
Tier t 1 . . .	keine Eier	50	desgl.	39	9	11
Tier t 2 . . .	desgl.	50	desgl.	39	keine Eier	11
Tier t 3 . . .	desgl.	50	desgl.	39	8	11
Tier t 4 . . .	desgl.	50	desgl.	39	keine Eier	19

	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen
Tier q . . .	keine Eier	10	14	nicht angebiss.	keine Eier	nicht angebiss.
Tier t 1 . . .	8	3	14	desgl.	7	desgl.
Tier t 2 . . .	14	1	8	2	2	desgl.
Tier t 3 . . .	4	1	5	nicht angebiss.	17	3
Tier t 4 . . .	3	1	keine Eier	25	4	—

	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen
Tier q . . .	keine Eier	nicht angebissen	(vertrocknete Eier) 17	16	(gesunde Eier) 3
Tier t 1 . . .	desgl.	23	keine Eier	4	—
Tier t 2 . . .	5	3	11	16	—
Tier t 3 . . .	keine Eier	nicht angebissen	keine Eier	31	—
Tier t 4 . . .	27	1	—	—	—

Tabelle 5 a.

Dauer einer Befruchtung bei einem Weibchen, das geschlechtsreif am 10. 5. geschlüpft, bis zum 26. 9. isoliert gehalten, und am 26. 9. einmal begattet worden ist.

	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen
Tier u . . .	6	27	11	12	keine Eier	32

	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen	Eier gelegt nach Tagen	Gesogen nach Tagen
Tier u . . .	12	23	19			

Es verhielten sich darin isoliert gehaltene Weibchen wie die Männchen. Wie aus Tabelle 5a ersichtlich ist, sog das am 10. 5. geschlechtsreif geschlüpfte, isoliert gehaltene Weibchen am 14. 5., am 19. 5. und am 6. 6. Weiter dargebotene Nahrung wurde nicht angenommen. Erst am 26. 9. sog dieses Weibchen und wurde an demselben Tage befruchtet; daraufhin legte es nach 6 Tagen, am 2. 10. 90 Eier; in den folgenden Tagen weiterhin 64 Eier. Dieses Beispiel bestätigt meine häufigen Beobachtungen, daß Argas persicus-Weibchen zur parthenogenetischen Eiablage nicht befähigt sind. Vielmehr muß jeder Eiablage eine Befruchtung vorangegangen sein. Da, wie aus Tabelle 5 hervorgeht, eine Kopulation zur Befruchtung der Eiproduktion bis zu 6 Monaten vorhält, anderseits jedoch allmonatlich nach dargebotener Mahlzeit nach dem Saugen die Weibchen kopulieren können, so läßt bei mehrfach befruchteten Weibchen sich im Einzelfalle nie feststellen, ob die jedesmal nach dem Saugen abgelegten Eier von Spermien, welche von der letzten Kopulation oder von einer früheren Begattung stammen, befruchtet wurden. Man kann demnach die Zeit, welche von der bei der Kopulation erfolgten Befruchtung bis zur Eiablage verstreicht, mit Sicherheit nur bei der nach der letzten Häutung einmalig begatteten und dann isoliert gehaltenen Weibchen feststellen. Auch hierfür bietet die Tabelle Va ein Beispiel. Darnach verstrichen von der ersten Kopulation bis zur ersten Eiablage 6 Tage. Bei zwei anderen ebenso gehaltenen Weibchen sind die entsprechenden Zeiten:

♀ III. gesogen, kopuliert: 18. 12. Eier abgelegt 30. 12.

♀ V. gesogen, kopuliert: 30. 12. Eier abgelegt 19. 1.

C. Die Entwicklung.

1. Die Eier, ihre Entwicklungsdauer und das Auskriechen der Larven.

Das Ei von Argas persicus ist frisch abgelegt graubraun, kugelrund, nicht strukturiert (Tafel 6, Fig. 11) und wiegt 0,0001 g. Das Optimum für die Entwicklung ist 25°. Auch bei 28° im Thermostaten entwickeln die Eier sich ganz gut, vereinzelte Eier haben dann jedoch die Neigung, zu vertrocknen. In Temperaturen von 37°—45° entwickeln sie sich nicht, sondern gehen zugrunde, meist indem sie vertrocknen. Eier, welche 3—14 Tage bei einer Temperatur von 5° gehalten waren, behielten ihre Entwicklungsfähigkeit; die Entwicklung dauerte so viel Zeit länger, als die Eier in der Kälte zugebracht hatten.

Im Sommer entwickeln sich die Eier schneller als im Winter. Im Winter dauerte die Entwicklung der Eier durchschnittlich 20–25 Tage, im Sommer 5—6 Tage, im Winter also etwa 20 Tage länger. Die Temperatur ist es jedoch anscheinend nicht, welche hierbei den Ausschlag gibt, denn die Eier wurden während des ganzen Jahres in resp. auf dem Thermostaten in ziemlich gleicher Temperatur (25°—28°) gehalten (Tabelle 6, S. 176).

Die sich entwickelnden Eier werden langsam hellergrau bis grauweißlich und zeigen dabei ein Aussehen, als sei der Inhalt des Eies aus zwei Hälften zusammengesetzt. Man kann schon daran erkennen, ob die Eier zur Entwicklung kommen.

Tabelle 6.

Monate	Eier geschlüpft nach
Dezember . . .	19—24 Tagen
Januar	22 „
März	14—21 „
„	30 „
Juli	6 „

2. Die sechsbeinige Larve.

Beim Ausschlüpfen, wobei die farblosen Eihüllen halbiert zurückbleiben (Tafel 5, Fig. 12), ist die aus dem Ei kriechende helle, graugelbliche Larve 2 mm lang (Tafel 5, Fig. 13). Von der Eiablage bis zum Schlüpfen verstreicht im Winter mehr Zeit als im Sommer (Tabelle 7).

Der Körper der ausschlüpfenden Larve ist rund (Tafel 5, Fig. 13). Am vorderen Rande und weit über denselben vorspringend liegen median die Mundwerkzeuge, so daß dieselben wie bei den Ixodiden von oben bereits sichtbar sind. Denn die Vorwölbung des vorderen Körperrandes ist in diesem Stadium so schwach, daß er nur die Basis der Mundteile bedeckt (Tafel 5, Fig. 13 c und d). Die Larve hat drei sehr lange Beinpaare; dieselben sind so lang oder selbst etwas länger als der Körper und auch im Verhältnis zum Körper viel länger als die Beine der späteren Stadien (Tafel 5, Fig. 13 a, b, c).

Die Larven sind überaus lebhaft beweglich. Sie können die Glaswände der Gefäße senkrecht emporklettern, und laufen sehr schnell und unruhig umher. Beim Emporklettern an glatten Wänden funktionieren Tarsenanhänge, runde Haftscheiben, Pulvillen genannt, wie Saugnäpfe, vermittels deren sich die Tiere an glatten Flächen festhalten können (Tafel 5, Fig. 13 c).

Die Larven sind zur ersten Nahrungsaufnahme nur schwer zu veranlassen, sie saugen nicht so leicht Blut wie die ausgewachsenen Tiere. Bei einem großen Teil, oft bei über der Hälfte der frisch geschlüpften Larven, gelang es nicht, die Tiere zum Saugen zu bringen, die dann allmählich zugrunde gingen. Setzt man die Larven in der gleichen Weise wie die erwachsenen Zecken innerhalb eines Glaszylinders auf ein Huhn, so beißen sie überhaupt nicht an. Sie brauchen, offenbar im Gegensatz zu den späteren Stadien, völlige Dunkelheit zur Nahrungsaufnahme. Deshalb wurden die Larven in 7 cm lange, $1^1/_2$ cm breite, $1^1/_2$ cm hohe Holzkästchen gebracht, welche auf einer Seite zwei eingeschnittene mit Müllergaze bezogene Fenster hatten. Die Kästchen wurden über Nacht auf ein Huhn festgebunden. Von den Larven sog dann ein Teil durch die Gaze hindurch, aber immer nur eine verhältnismäßig geringe Anzahl der Tiere. Als zweckmäßiger erwies es sich in der Folge, die Larven 4—6 Tage nach dem Schlüpfen, wenn ihr Chitin gehärtet ist — unmittelbar nach dem Schlüpfen beißen die Tiere noch schwerer an — über ein Huhn zu schütten, welches sich in einem großen Glase befand, dessen Boden mit einem weitmaschigen Drahtnetz und

darunter mit Fließpapier belegt war. Leichter wie am Huhn beißen die Larven an einer Taube an; es wurde deshalb häufig statt des Huhnes eine Taube zur Fütterung der Larven benutzt. Nach 2—12 Tagen finden sich dann am Boden die vollgesogenen Larven, welche nach dem Saugen vom Wirt abfallen und sich ins Papier verkriechen. Sie erscheinen auch jetzt noch hell, doch sieht man die prall gefüllten Darmblindsäcke rotbraun durch den Körper durchschimmern. Die Larven haben nach dem Saugen fast den fünffachen Körperumfang (Tafel 5, Fig. 14). Nach dem Saugen ist die Vorwölbung des vorderen Körperrandes bereits fast so stark wie bei den späteren Entwicklungsstadien von Argas persicus, so daß sie die ganzen Mundteile bedeckt. Der Rüssel liegt daher jetzt ventral und ist von oben nicht mehr wahrnehmbar.

Die Larven desselben Geleges sind untereinander vor und nach dem Saugen fast ganz gleichgroß. Auch die Larven können sehr lange hungern. Von einem Gelege im Januar, von dem die Mehrzahl der Larven nach dem Schlüpfen gesogen und sich normal entwickelt hatte, wurden 60 Stück zwei Monate hungern gelassen. Alle blieben während dieser Zeit am Leben. Aber nicht eine derselben war nachher zum Saugen zu bringen. Die Tiere liefen auf dem Huhn einher, aber keines biß an. Die Larven waren offenbar nach der langen Hungerperiode dazu nicht mehr fähig.

Tabelle 7.
Durchschnittliche Dauer des Larvenstadiums.

Monate	Tage
Februar	28
März	25
April	25
Mai	14
Juni	15
Juli	15
August	15

Die gefütterten Tiere werden langsam heller und platter; die Darmblindsäcke schimmern deutlich schwärzlich hervor. Das sonst gelbliche Chitin über der ganzen Körperoberfläche wird, was besonders an den Seitenwänden erkennbar ist, ganz weiß. Dann stehen die Tiere kurz vor der Häutung.

3. Das erste Nymphenstadium.

Die erste Häutung erfolgt, wie aus Tabelle 7 ersichtlich ist, je nach der Jahreszeit, im Sommer schneller, im Winter langsamer. Die kürzeste Zeit im Hochsommer betrug 15, die längste im Winter 25—28 Tage nach dem Schlüpfen.

Bei der Häutung entsteht am Rande des Körpers im vorderen Körperdrittel ein Riß der Haut, aus welchem die Nymphe ausschlüpft, die sechsbeinige Haut zurücklassend (Tafel 5, Fig. 15). Die frisch geschlüpfte Nymphe ist achtbeinig (Tafel 5, Fig. 16).

Es ist eine Streitfrage (Dönitz, Lounsbury), welches der vier Beinpaare das nach der ersten Häutung neugebildete ist. Aus einer Larve nun, welche drei normal

lang ausgebildete Beinpaare hatte, entwickelte sich nach der ersten Häutung eine achtbeinige Nymphe, deren vorletztes Beinpaar stark verkürzt war (Tafel 5, Fig. 18). Da nun die Larve zuvor sechs normal lange Beine hatte, halte ich die Annahme für berechtigt, daß das verkürzte vorletzte Beinpaar der achtbeinigen Nymphe das neugebildete vierte Beinpaar ist (Tafel 5, Fig. 18). Dafür sprechen in gewissem Sinne auch Beobachtungen bei Regenerationen. Die Zecken regenerieren zwischen zwei Häutungen ganz oder teilweise abgeschnittene Beine vollständig; dieselben sind aber bei der ersten Häutung nach dem Abschneiden verkürzt und werden erst nach der zweiten Häutung nach dem Abschneiden wieder normal lang, wie dies auch von anderen Arthropoden bekannt ist. Bei Regenerationsbildungen treten die Häutungen verzögert ein. Da nun die oben erwähnte Larve zuvor 6 normal lange Beine hatte, halte ich die Annahme für berechtigt, daß das verkürzte verletzte Beinpaar der achtbeinigen Nymphe das neugebildete vierte Beinpaar ist (Tafel 6, Fig. 18). Frisch nach der Häutung sind die Beine ganz weiß. Man erkennt daran in allen Stadien frisch gehäutete Tiere. Jedoch schon nach einigen Tagen werden beim Erhärten des Chitins die Beine ebenso gelblich wie das Chitin des übrigen Tieres.

Die Nymphen verhalten sich ruhiger als die Larven. Sie können, da die Pulvillen rückgebildet sind, senkrechte Wände nicht mehr emporklettern und sind daher einfacher zu züchten.

Nach jeder Häutung müssen die Nymphen mindestens einmal Blut saugen, um sich weiter zu entwickeln.

Die Nymphen saugen zum ersten Mal 1—2 Tage nach der erfolgten Häutung, sowie ihr Chitin erhärtert ist. Werden die Tiere dazu auf das Huhn gebracht, so laufen sie erst unruhig hin und her, stoßen aber schon nach kurzer Zeit den Rüssel in die Haut ein und sitzen während des Saugens flach still (Tafel 5, Fig. 17b). Eine Mahlzeit in diesem ersten Nymphenstadium dauerte $^1/_2$—1 Stunde. Einige Tage (etwa 3—5) nach dem Schlüpfen beißen die Nymphen ebenso wie die Larven schneller an als unmittelbar nach dem Schlüpfen. Diese Nymphen entleeren 1 – 2 Stunden nach dem Saugen bei 25°, oder nach $^1/_4$ Stunde bei 37° in der oben geschilderten Weise ebenfalls einen großen Tropfen wasserklaren Coxaldrüsensekrets (Tabelle 8).

Tabelle 8.
Durchschnittliche Dauer des ersten Nymphenstadiums.

Monat	Tage	Tage	Monat	Tage	Tage
Januar	—	—	Juni	25	—
Februar	—	—	Juli	7	11
März	25	—	August	8	—
April	—	—	September	16	—
Mai	24	—			

4. Das zweite Nymphenstadium.

Auch in der weiteren Entwicklung machten sich je nach der Jahreszeit zeitliche Unterschiede geltend, obwohl, wie bereits erwähnt, die Tiere im Sommer und Winter

im Brutschrank bei ziemlich gleicher Temperatur gehalten wurden. Im Sommer war 7—8 Tage, im Winter ca. 20 Tage nach dem Schlüpfen bei den Nymphen das erste Zeichen, daß eine neue Häutung bevorstand, wieder dadurch bemerkbar, daß der Körperrand weiß wurde. Diese Häutung erfolgt in der gleichen Weise, wie es oben bereits für die erste geschildert wurde (Tafel 6, Fig. 19). Während jedoch bis zu dieser zweiten Häutung alle Tiere desselben Geleges untereinander ziemlich gleich groß waren, machten sich nun bei den ausgeschlüpften Tieren ausgeprägte Größenunterschiede bemerkbar. Wie es sich beim Weiterzüchten herausstellte, sind diese auffallenden Größenunterschiede dadurch zu erklären, daß sich nun bei den Tieren bereits der Geschlechtsdimorphismus bemerkbar macht. Weitere Geschlechtsmerkmale, wie z. B. die Geschlechtsöffnungen, sind aber noch nicht ausgebildet und äußerlich auch noch nicht in ihrer Anlage erkennbar. Bei der weiteren Beobachtung der einzelnen Nymphen (Tafel 6, Fig. 20—23) zeigte es sich, daß die nach dieser zweiten Häutung größeren Tiere durchgängig Weibchen werden, die kleineren fast alle Männchen. Nur vereinzelte von den kleineren Tieren entwickelten sich ebenfalls zu Weibchen. In der Regel bleibt ein deutlicher Größenunterschied zwischen Weibchen und Männchen erhalten. Die auf der Tafel 6, Fig. 20, 21 abgebildeten charakteristischen Exemplare haben sich zu Männchen, die auf Tafel 6, Fig. 22, 23 zu Weibchen entwickelt. Die Unterschiede in den Größenverhältnissen sind als typisch zu bezeichnen.

Die Tiere saugen kurz nach dem Häuten, sowie ihr Chitin erhärtet ist; sie beißen schneller an als die jüngeren Stadien. Vom Schlüpfen bis zur dritten Häutung vergehen durchschnittlich im Winter 20 Tage, im Sommer 15 Tage (Tabelle 9).

Tabelle 9.

Durchschnittliche Dauer des zweiten Nymphenstadiums.

Monat	Tage	Tage	Tage	Monat	Tage	Tage	Tage
Januar . . .	—	—	—	Juli . . .	—	6	—
Februar . . .	—	—	—	August . .	20	19	18
März	—	—	—	September .	—	19	—
April	—	22	—	Oktober . .	—	—	—
Mai	—	—	—	November .	—	—	—
Juni	—	30	—	Dezember .	—	—	—

5. Das dritte Nymphenstadium.

Nach der dritten Häutung ist der Größenunterschied der Geschlechter fast noch deutlicher als nach der zweiten Häutung (Tafel 6, Fig. 25—28). Im übrigen unterscheiden sich diese Tiere durch nichts als durch die Größenverhältnisse vom zweiten Nymphenstadium. Vom Saugen bis zu der vierten und letzten nochmaligen Häutung vergehen nach meinen bisherigen Beobachtungen 18—36 Tage (Tabelle 10). Nach dieser Zeit erfolgt die Häutung in der oben bereits beschriebenen Weise, es platzt der Körperrand im vorderen Drittel auf, und der Exuvie entschlüpft nun das geschlechtsreife Tier mit deutlich ausgebildeter Geschlechtsöffnung.

Tabelle 10.

Durchschnittliche Dauer des dritten Nymphenstadiums.

Monat	Tage	Monat	Tage	Monat	Tage
Januar	—	Mai	36	September . .	34
Februar	—	Juni	—	Oktober . . .	—
März	—	Juli	—	November . .	—
April	—	August . . .	18	Dezember . . .	—

6. Die geschlechtsreifen Tiere.

Bei den geschlüpften Tieren sind die Größenunterschiede zwischen Männchen und Weibchen ganz erheblich (Tafel 6, Fig. 30—33); die Maße sind oben angegeben. Auch die geschlüpften geschlechtsreifen Tiere saugen nicht sofort nach dem Schlüpfen. Es vergehen 4—5 Tage, in welcher Zeit erst die Chitinhülle erhärtet, ehe die Tiere anbeißen.

Auch dann saugen sie zunächst wenig, um sich erst nach 1—2 Tagen bei einer weiteren Fütterung richtig vollzusaugen. Nach diesem richtigen Vollsaugen erfolgt die erste Kopulation, also erst 7—8 Tage nach dem Schlüpfen. Nach weiteren 7 Tagen waren die Tiere bereits wieder zur Nahrungsaufnahme bereit und sogen, aufs Huhn gebracht, wiederum Blut. Die Nahrungsaufnahme erfolgt also erheblich häufiger, als es dem normalen Bedürfnis der geschlechtsreifen Zecke entspricht. Sodann wurde nach 18 Tagen nochmals Nahrung aufgenommen, und erst nach diesem dritten Blutsaugen legten die Weibchen nach weiteren vier Tagen die ersten Eier ab (Tabelle 11). Die erste Eiablage erfolgte also erst 36 Tage nach der vierten und letzten Häutung der Tiere.

Tabelle 11.

Eiablage 1. 1. 19	Geschlüpft 13. 1. 19	Saugen 23. 1. 19	I. Häutung 15. 2. 19	Saugen 26. 2. 19	II. Häutung 12. 3. 19	Saugen 13. 3. 19
III. Häutung 2. 4. 19	Saugen 11. 4. 19	IV. Häutung 6. 5. 19	Saugen 10. 5. 19	Saugen 12. 5. 19	Saugen 19. 5. 19	Begattung 19. 5. 19
Saugen 7. 6. 19	Eiablage 11.—12. 6. (23 Eier)	Saugen 13. 6. 19	Eiablage 16. 6. 19 (78 Eier)	Saugen 21. 6. 19		

In vorstehender Tabelle ist das Protokoll über die Beobachtung eines Zeckenpärchens beigegeben, von dessen Ausschlüpfen aus dem Ei bis zur ersten Eiablage. Das Protokoll gibt zugleich ein Beispiel dafür, in welcher Weise die Aufzeichnungen über jedes Tier geführt wurden. Es ist mit Rücksicht auf den zur Verfügung stehenden Platz davon abgesehen worden, noch mehr Protokolle beizufügen.

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich ist, dauert die Entwicklung einer Zecke von der Ablage des Eies an, bis das daraus herangewachsene geschlechtsreife und befruchtete Weibchen wieder Eier legt, im Winter fast ein halbes Jahr. Die Entwicklung geht in der warmen Jahreszeit etwas schneller von statten, die kürzeste Zeit, welche hierfür gebraucht wurde, waren drei Monate.

Die vorstehend besprochenen Untersuchungen haben zugleich Veranlassung gegeben, auch einige serologische Versuche nach der Richtung anzustellen, ob sich mittels der Präzipitinreaktion Unterschiede bezüglich des Eiweißes der verschiedenen Entwicklungsstadien bei Argas persicus feststellen lassen. Über die dabei gewonnenen Ergebnisse, sowie über weitere Versuche über die verwandtschaftlichen Beziehungen von Argas persicus zu anderen Zeckenarten wird in einer besonderen Mitteilung berichtet werden.

Tafelerklärung.

Alle Figuren beziehen sich auf Argas persicus und sind von lebenden Tieren aufgenommen. Fig. 3 und 6 sind bei 4facher Vergrößerung aufgenommen, Fig. 13c und 13d noch stärker vergrößert. Alle übrigen Abbildungen von Tafel 5 und 6 sind bei der gleichen Vergrößerung 1:2 hergestellt. (Leider geben die Reproduktionen nicht das wieder, was die Originaltafeln zeigen.)

Fig. 1. Geschlechtsreifes Männchen ventral.

Fig. 2. Dasselbe dorsal.

Fig. 3. Dasselbe ventral stärker (4 mal) vergrößert; hinter dem Rüssel Papille mit Geschlechtsöffnung.

Fig 4. Geschlechtsreifes Weibchen ventral.

Fig. 5. Dasselbe dorsal.

Fig. 6. Dasselbe ventral stärker (4 mal) vergrößert; hinter dem Rüssel die weibliche Geschlechtsöffnung als breiter Schlitz erkennbar.

Fig. 7. Kopulation, das größere Weibchen unten, das kleinere Männchen oben, die Beinpaare des Männchens greifen abwechselnd über die des Weibchens über.

Fig. 8. Weibchen bei Beginn der Eiablage mit einem Ei.

Fig. 9. Weibchen während der Eiablage mit Eiern.

Fig. 10. Weibchen bei fortgeschrittener Eiablage.

Fig. 11. Einzelnes Ei.

Fig. 12. Eihüllen nach dem Schlüpfen der Larve.

Fig. 13. Sechsbeinige Larve kurz nach dem Schlüpfen, die Beine sind im Verhältnis zum Körper sehr lang.

Fig. 13a. Ventral.

Fig. 13b. Dorsal, der Rüssel steht über den Vorderrand des Körpers über.

Fig. 13c. Die Larve stärker vergrößert. Der Rüssel ragt über den vorderen Körperrand stark hervor. An den 6 Beinen ist an jedem Endglied eines Haftorgans eine Haftscheibe, Pulvillen mit zwei Haken erkennbar. Die Darmblindsäcke schimmern durch.

Fig. 13d. Vordere Körperpartie der Larve stärker vergrößert. Rüssel mit Palpen über den vorderen Körperrand hervorragend.

Fig. 14. Sechsbeinige Larve nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 15. Exuvie der sechsbeinigen Larve.
a) Ventral; der Schlitz am vorderen Körperrand, durch den die Nymphe ausgeschlüpft ist, erkennbar.
b) Dorsal, Rüssel über Vorderrand vorstehend.

Fig 16. Frisch geschlüpfte achtbeinige Nymphe vor dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 17. Dasselbe Tier wie 16 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 18. Eine Nymphe kurz nach der ersten Häutung. Das vorletzte Beinpaar ist neu und zu kurz angelegt.

Tafel 6.

Fig. 19. Zweite Exuvie; am Rande des vorderen Körperdrittels schimmert der Spalt hindurch, durch den die Nymphe ausschlüpfte.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 20—23. Nymphen nach der zweiten Häutung mit deutlichen Größenunterschieden. Aus den kleineren, 20—21, entwickeln sich Männchen, aus den größeren, 22—23, Weibchen.

Fig. 20. Männliche Nymphe nach der zweiten Häutung vor dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 21. Dasselbe Tier wie Fig. 20 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 22. Weibliche Nymphe nach der zweiten Häutung vor dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 23. Dasselbe Tier wie 22 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 24. Dritte Exuvie.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 25—26. Männliche Nymphe nach der dritten Häutung.

Fig. 25. Männliche Nymphe vor dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 26. Dasselbe Tier wie bei Fig. 25 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 27—28. Weibliche Nymphe nach der dritten Häutung.

Fig. 27. Weibliche Nymphe vor dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 28. Dasselbe Tier wie Fig. 27 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 29. Vierte Exuvie.

Fig. 30—31. Geschlechtsreifes Männchen nach der vierten Häutung.

Fig. 30. Männchen vor dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 31. Dasselbe Tier wie Fig. 30 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 32. Geschlechtsreifes Weibchen, die letzte (vierte) Exuvie abstreifend.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Fig. 33. Dasselbe Tier wie Fig. 32 nach dem Saugen.
a) Ventral.
b) Dorsal.

Literaturverzeichnis.

1906. Christophers, C. R., The Anatomy and Histology of Ticks. Scientific memoirs by officers of the Medical and Sanitary Departments of the Government of India. Nr. 23. Calcutta.

1907. Dönitz, W., Die wirtschaftlich wichtigen Zecken mit besonderer Berücksichtigung Afrikas. Leipzig, A. Barth.

1907. Ficker und Rosenblatt, Argas miniatus und Hühnerspirillose. Hygienische Rundschau Bd. 17.

1913. Kleine und Eckard, B., Über die Lokalisation der Spirochaeten in der Rückfallfieberzecke. Zeitschr. für Hygiene Bd. 74.

1895. Lounsbury, C. P., Fowl Ticks. Agricultural Journal Cape Town 8.

1903. Lounsbury, The fowl tick. Studies on its life cycle and habits. Agric. Journ. Cape Town 23.

1911. Neumann, L. G., Ixodidae. Das Tierreich, 26 Liefer. Berlin.

1907. Möllers, B., Experimentelle Studien über die Übertragung des Rückfallfiebers durch Zecken. Zeitschr. für Hygiene Bd. 58.

1911. Nuttal, Ticks. A monograph of the Ixodoidea. Cambridge.

1919. Rocha-Lima, Deutsche medizinische Wochenschr. 1919, Nr. 27.

1901. Salmon und Stiles, The cattle ticks (Ixodoidea of the United States). 17th Animal Report of the Bureau of Animal Industry U. S. Dept. of Agric. Washington.

1908. Zuelzer, Über den Einfluß der Regeneration auf die Wachstumsgeschwindigkeit bei Asellus aquaticus. Arch. für Entwicklungsmechanik Bd. 27.

1920. Zuelzer, Biologische Untersuchungen an Zecken. Sitzungsber. der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft 1920.

Zur gesundheitlichen Beurteilung einiger in der Neuzeit für Genußzwecke empfohlener Fette.

I. Teil.

Tierphysiologische und pharmakologische Untersuchungen gehärteter pflanzlicher Öle (Baumwollsamen-, Erdnuß-, Lein- und Sesamöl) und des ungehärteten Sesamöls.

Von

Geh. Reg.-Rat Prof. **Dr. med. E. Rost,**
Mitglied des Reichsgesundheitsamtes.

Einleitung.

Die Margarine- und Kunstspeisefettindustrie hat in den letzten Friedensjahren zahlreiche ausländische (tropische) Fette zur Verarbeitung heranzuziehen versucht, die zum Teil nur von ausländischen, vielfach unkultivierten Völkern genossen werden, zum Teil aber anscheinend überhaupt noch nicht zum menschlichen Genuß verwendet worden sind.

Solche Fette auf ihr Verhalten im Tierversuch und erforderlichenfalls auf ihre Unschädlichkeit am Menschen zu untersuchen, liegt im Interesse der öffentlichen Gesundheitspflege.

Zufolge eines Rundschreibens des Reichskanzlers an die Bundesregierungen vom 30. Juli 1911 ist in Preußen unter dem 27. September 1911 ein Erlaß der beteiligten Ressortminister[1]) ergangen, wonach in den Margarine- und Kunstspeisefettfabriken nur solche Fette verwendet werden dürfen, von deren Unschädlichkeit für den menschlichen Genuß sich die Hersteller vergewissert haben oder deren Unbedenklichkeit für den menschlichen Genuß mit Sicherheit bereits feststeht[2]). Dar-

[1]) Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamts 1912, S. 284. Die Forderung Vasens (Die Kunstbutter, ihre Fabrikation und ihre sozialhygienische Bedeutung. Zentralbl. f. allgem. Gesundheitspflege, Bd. 33, 1914, S. 110 und 128), daß Stoffe, die vorher noch nicht zur Nahrungsmittelherstellung verwendet worden sind, erst nach einer gegebenenfalls tierphysiologischen Prüfung durch die zuständigen Behörden verarbeitet werden dürfen, ist demnach für Preußen und die übrigen für die Margarinefabrikation in Betracht kommenden Freistaaten bereits erfüllt.

[2]) Zur Frage der Prüfung bisher nicht erprobter Fette auf ihre Genußtauglichkeit. Vergl. Thoms, Verhandl. des Deutsch. Kolonialkongresses 1910, S. 85, zitiert nach Ztschr. f. Unters. d. Nahrgsm. 1911, S. 235.

Kerp, Zur Frage der Verwendung unbekannter, auf ihre Genußfähigkeit nicht geprüfter Fette in der Margarinefabrikation, Bemerkungen zu dem Altonaer Margarineprozeß. Ärztl. Sach-

nach sind, falls Fette in der Speisefettindustrie angetroffen werden, deren Verwendung für Speisezwecke bisher nicht gebräuchlich war — unbeschadet der Untersuchung durch die örtlich zuständigen Nahrungsmittel-Untersuchungsanstalten — dem Reichsgesundheitsamt Proben zur Untersuchung auf Unschädlichkeit für den menschlichen Genuß einzusenden. In den übrigen deutschen Freistaaten, in denen Margarine- und Kunstspeisefettfabriken sich befinden, sind diesem Erlaß entsprechende Anordnungen getroffen worden.

Bei diesen dem Gesundheitsamt aufgetragenen Untersuchungen handelt es sich also lediglich um die Feststellung, ob dem betreffenden Fett gesundheitsschädliche Eigenschaften innewohnen, so daß es als genußtauglich für den Menschen zugelassen werden kann oder nicht. Wie die Fette im Darm ausgenutzt werden und ob sie im Stoffwechsel andere Fette biologisch vollwertig zu vertreten geeignet sind, liegt außerhalb des Rahmens dieser Untersuchungen. Derartige Fragen lassen sich nur auf Grund eingehender, an verschiedenen Versuchspersonen unter Heranziehung von Vergleichsversuchen mit anderen bekannten Fetten angestellter Versuche beantworten, erfordern also in jedem Fall zeitraubende und kostspielige Laboratoriumstätigkeit. Zudem sind selbst von Butter und Schweineschmalz die Ausnutzungswerte keine feststehenden Größen, wie unter anderem die Untersuchungen Rubners[1]) dartun. Das gilt ebenso für die Margarinesorten und Kunstspeisefette, wie aus den Versuchen Hultgrens und Landergrens[2]), Lührigs[3]) sowie Wibbens' und Huizengas[4]) hervorgeht.

Die im Gesundheitsamt bisher untersuchten Fette und Fett enthaltenden Fruchtkerne waren hinsichtlich ihres Verhaltens im Tierkörper von verschiedenster Art. Es fanden sich unter ihnen solche Fette, deren Fettsäurekomponenten Giftwirkungen entfalteten, Fett enthaltende Fruchtkerne, die teils in ihrem Fettanteil, teils in dem Preßrückstand pharmakologisch wirksam waren, und Fette, die sich als pharmakologisch indifferent erwiesen. Für eine Anzahl bisher schon gebrauchter Öle konnte

---

verständigen-Zeitung 1911 Nr. 13 und Nr. 18, sowie Nahrungsmittelchemische Tagesfragen, Ersatz von tierischen Fetten durch Pflanzenfette in der Margarineindustrie. Nahrungsmittelchemie in Vorträgen 1914, S. 200.

Vasen (a. a. O., S. 128). Wenn Vasen einen Vorwurf erhebt, weil die Fabrikation und der Vertrieb der Margarine in sanitärer Beziehung „nur den allgemein-hygienischen Bestimmungen" des Nahrungsmittelgesetzes vom 14. Mai 1879 unterliege, so is dem gegenüber zu halten, daß dieses Gesetz nach den maßgebenden Begründungen und Interpretationen dem Nahrungsmittelfabrikanten die Pflicht auferlegt, sich über die Genußfähigkeit seiner Erzeugnisse mit aller erdenklichen Sorgfalt Gewißheit zu verschaffen (s. Kerp, a. a. O.).

[1]) M. Rubner, Über die Ausnutzung einiger Nahrungsmittel im Darmkanale des Menschen. Zeitschr. f. Biologie 1879, Bd. 5, S. 115.

[2]) Hultgren u. Landergren, Über die Ausnützung von Margarin, Butter und hartem Roggenbrot im Darme des Menschen. Skand. Arch. f. Physiologie 1891, Bd. 2, S. 373.

[3]) Lührig, Die relative Verdaulichkeit einiger Nahrungsfette im Verdauungskanal des Menschen. I. Margarine und Naturbutter. Zeitschr. f. Unters. der Nahrungsmittel usw. 1899, 1., S. 484. II. Palmin, S. 622. III. Butter und Margarine, S. 769. IV. Über Kunstspeisefett und dessen Verdaulichkeit im Vergleich zum Schweineschmalz. Ebenda 1900, 1., S. 73.

[4]) Wibbens und Huizenga, Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Butter und einiger Surrogate derselben. Pflügers Arch. f. Physiol. Bd. 83, 1901, S. 609.

auch bei erneuter Prüfung von Proben der jetzt gebräuchlichen Handelssorten deren Unschädlichkeit erwiesen werden.

Über die meisten dieser Fette sind Berichte an das Reichsministerium des Innern erstattet worden; die gutachtliche Äußerung über die Kemirinüsse hat zu dem Erlaß der Preußischen Ressortminister vom 4. September 1913 [1]) geführt, in dem auf Grund der im Gesundheitsamt ausgeführten physiologischen Versuche mit botanisch bestimmtem einwandfreiem Material die Kemirinüsse und das Öl derselben als ungeeignet für die Herstellung von Nahrungsmitteln bezeichnet werden.

Im folgenden sollen zunächst die Versuche über gehärtete pflanzliche Öle beschrieben werden, über die dem Herrn Reichsminister des Innern am 2. Juli 1914 berichtet worden ist.

Da zu den Versuchen, bei denen die Öle zum Teil in ungehärtetem und in gehärtetem Zustand verwendet wurden, auch Sesamöl in gehärtetem Zustand diente, soll hier auch eine schon früher ausgeführte pharmakologische Untersuchung zahlreicher Proben ungehärteten Sesamöls Berücksichtigung finden. Sesamöl ist bekanntlich als latentes Kennzeichnungsmittel für Margarine vorgeschrieben [2]), in 100 Gewichtsteilen der angewandten Fette und Öle muß die Zusatzmenge bei Margarine mindestens 10 Gewichtsteile Sesamöl betragen [2]). Seine umfangreiche Verwendung in der humanen und veterinären Medizin hat zur Aufnahme des Oleum Sesami in die V. Ausgabe des Deutschen Arzneibuchs Anlaß gegeben. Im Jahre 1906 wurde nun Sesamöl als Ursache einer Vergiftung angeschuldigt, deren Entstehungsart aber nicht sicher hat aufgeklärt werden können. Daß die zahlreichen, verschiedenen Bezugsquellen entnommenen Sesamölproben weder auf die Blutbeschaffenheit [3]), noch auf sonstige Organsysteme einwirkten, ergibt sich aus den Ausführungen im Anhang.

I. Gehärtete Ole,

Versuche, teilweise mit dem Ständigen Mitarbeiter Dr. A. Schulz ausgeführt.

Über die chemischen Grundlagen der Härtung der Öle, d. i. die Reduktion der ungesättigten Ölsäuren der Öle mittels Wasserstoffs bei höherer Temperatur in Gegenwart einer Kontaktsubstanz (Nickel, Platin, Palladium) und ihre Überführung in die festen gesättigten Säuren der Stearinsäurereihe von gleicher Kohlenstoffzahl, braucht näheres hier nicht angeführt zu werden. Sie sind zur Genüge bekannt und insbesondere in den Arbeiten von Thoms und Franz Müller [4]), von K. B. Lehmann und Süßmann [4]) sowie von Rost [5]) eingehend dargestellt [6]).

[1]) Veröff. des Reichsgesundheitsamtes 1913, S. 1231.

[2]) Gesetz, betr. den Verkehr mit Butter usw. vom 15. Juni 1897 (R.G.Bl. S. 375) und Bekanntmachung, betr. Bestimmungen zur Ausführung des genannten Gesetzes, vom 4. Juli 1897 (R.G.Bl. S. 591). — Kerp, Über die Baudouinsche Reaktion. Diese Arb. Bd. 15, 1899, S. 251.

[3]) Vergl. auch Rost, Franz und Heise, Beiträge zur Photographie der Blutspektra. Diese Arb. Bd. 32, 1909, S. 272.

[4]) Siehe S. 190 und 191. Vergl. außerdem: W. Fahrion, Die Härtung der Fette 1915 und J. Klimont, Die neueren synthetischen Verfahren der Fettindustrie 1916.

[5]) E. Rost, Geh. Trane als Speisefette. Mitt. D. Seefisch.-Ver. 1919, Nr. 11/12.

[6]) In dem neuerdings von einem Komitee der Royal Society in London über Fats and fatty acids as food erstatteten Bericht (Journ. of physiology Bd. 52, 1919, S. 328) werden von

Durch die Überführung der ungesättigten Glyzerinester in die gesättigten Glyzerinester wird der Schmelzpunkt der Fette erhöht, was seinerseits ihre Bekömmlichkeit und Ausnutzung beeinflussen kann. Auch war zu erweisen, daß die geringen Mengen Katalysator, insbesondere Nickel, die in den gehärteten Fetten etwa verbleiben, der Gesundheit der Genießenden nicht nachteilig sein können.

Zu den Versuchen dienten Baumwollsamenöl (Cottonöl), Leinöl, Erdnußöl und Sesamöl, von denen Proben derselben Herkunft auch in nicht gehärtetem Zustand zur Verfügung standen, außerdem ein Baumwollsamenöl bestimmter Fabrikmarke (Brebesol). Soweit durchführbar, wurden die gehärteten Fette im Tierversuch mit den ungehärteten Ausgangsstoffen verglichen.

Über die physikalischen und chemischen Konstanten der untersuchten Fette gibt die Zusammenstellung 13 im Anhang Aufschluß, deren Werte ebenso wie die Angaben über einen etwaigen Gehalt an dem Katalysator Nickel und an Arsen der Abhandlung von G. Rieß[1]) sowie hinsichtlich des Arsens auch der Abhandlung von Beck und Merres[2]) entnommen sind.

Die Farbe der gehärteten Öle war schwach gelblich bis fast weiß, die Konsistenz schmalz- bis talgartig; Geruch und Geschmack zeigten sich rein und mild.

Naturgemäß zeigten die Konstanten der Öle nach der Härtung deutliche Unterschiede gegenüber denen des Ausgangsmaterials; sie lagen aber innerhalb der Grenzen, in denen sich unsere bisher gebräuchlichen einheimischen Speisefette bewegen. Nur das gehärtete Leinöl schmolz erst bei 59,4°. Selbst die Verwendung eines so hoch schmelzenden Fettes kann physiologisch aber als unbedenklich angesehen werden, da diese gehärteten Öle nicht als solche genossen werden, sondern erst nach der Verarbeitung zu Margarine in den Verkehr kommen sollen. Hierdurch wird die von Thoms und Müller erhobene Forderung erfüllt, daß höher als bis zu einer Schmelztemperatur von 37° gehärtete Öle nicht unmittelbar zu Speisezwecken Verwendung finden sollen, während ihrem Genuß nach Herabdrückung des Schmelzpunkts infolge Vermischens mit Ölen oder niedrig schmelzenden Fetten in der Speisefettindustrie oder ihrer Verwendung in der Küche kein hygienisches Bedenken entgegensteht.

Wie aus der erwähnten Abhandlung von Rieß hervorgeht, ist es durch ein einwandfreies Verfahren gelungen, den Nachweis von Nickel zu verschärfen. Während von anderer Seite mit Methoden, bei denen kleine Nickelverluste nicht als ausgeschlossen betrachtet werden können, Nickel entweder überhaupt nicht oder nur in Spuren in den gehärteten Fetten aufgefunden worden ist, hat Rieß mittels eines Ausschüttelungsverfahrens entweder nicht wägbare oder in einem Fall (Erdnußöl) 1,8 mg

---

Drummond Angaben über die Herstellung von hardened (hydrogenated) oils and fatts pflanzlichen (Palmkern-, Erdnuß-, Lein-, Sesamöl) und tierischen Ursprungs gemacht (Härtung bei 250° unter Atmosphärendruck in Gegenwart von Nickelsuboxyd als Kontaktsubstanz. Schmelzpunkt der Endprodukte zwischen 20 und 40°. Nicht selten wiesen die gehärteten Öle eine niedrigere Säurezahl auf als die Ausgangsstoffe. Geruchlos und praktisch geschmacklos; meist rein weiß).

[1]) G. Rieß, Beitrag zur chemischen Untersuchung gehärteter Fette, unter besonderer Berücksichtigung der Gehalte an Nickel und Arsen. Diese Arb. Bd. 51, 1919, S. 521.

[2]) C. Beck und Merres, Über die Bestimmung kleiner Arsenmengen mit besonderer Berücksichtigung des Verfahrens von Smith. Diese Arb. Bd. 50, 1915, S. 38 (48).

Nickel (berechnet auf 1 kg Fett) betragende Niederschläge erhalten. Die mit diesem gehärteten Erdnußöl in einem Falle einem Hunde im Verlaufe des Versuchs (siehe Zusammenstellung 3) zugeführte Nickelmenge betrug rund 4 mg[1]).

In keiner der Proben konnte Arsen in bestimmbaren Mengen aufgefunden werden, obwohl von Rieß in einem mit Öl vermischten Nickelkatalysator und in einer noch nicht filtrierten und gereinigten Fettprobe Spuren von Arsen nachgewiesen wurden. Die Industrie vermag also die Fette in weitgehendem Maße wie vom Nickel so besonders auch vom Arsen zu befreien. Mit einem noch weiter verfeinerten Bestimmungsverfahren konnten Beck und Merres[2]) nur Gehalte von 0,057 bis 0,114 mg Arsen (As) in 1 kg Fett auffinden, d. h. Spuren, wie sie auch von Natur schon in vielen Lebensmitteln enthalten sind[3]).

Die Versuche wurden in größerer Zahl an Hunden, Katzen, Meerschweinchen und vereinzelt an Kaninchen angestellt.

Die Hunde waren sämtlich ausgewachsen, im Gewicht von 7 bis 40 kg. Die festen Fette, zu dicken Nudeln oder Stangen ausgerollt und mit Mehl bestreut, wurden den Tieren in die Speiseröhre eingeschoben, die Öle mit der Schlundsonde in den Magen eingeführt. Die Einführung erfolgte mehr oder weniger lange Zeit vor der täglichen Fütterung.

Die verabreichten Einzelmengen Fett waren in jedem Fall beträchtlich (7,5 bis 20 g auf 1 kg Körpergewicht; die Gesamtmengen betrugen für den Hund bis über 2000 g). In der Regel wurden die Versuche über mehrere (bis zu 17) Tage ausgedehnt. Da das Fett als Zulage zum ausreichenden Tagesfutter gegeben wurde, stieg das Körpergewicht der Versuchstiere fast durchweg an.

Die Tiere waren nicht in Käfigen untergebracht, sondern wurden in großen Buchten gehalten; tagsüber befanden sie sich im Freien in Auslässen.

Wie aus den Tabellen 1 bis 8 im Anhang hervorgeht, haben die genannten Fette bei den Versuchstieren weder örtlich reizende noch Allgemeinwirkungen entfaltet.

Wenn in den Versuchen der Tabelle 4, wobei möglichst gleichschweren Hunden die Fette teils in gehärtetem, teils in ungehärtetem Zustand eingeführt wurden, an einzelnen der 13 Versuchstage ein Teil des gehärteten Fetts unmittelbar nach dem Einstopfen wieder herausgewürgt wurde, so erklärt sich dies durch das bisweilen sehr lebhafte Sträuben des Hundes; auch waren die Nudeln bisweilen so fest gerollt oder so voluminös, daß sie vom Magen aus als Fremdkörper gewirkt haben dürften. Eigentliches, mehr oder weniger lange Zeit nach dem Einstopfen des Fetts sich einstellendes Erbrechen ist nur an einigen wenigen Tagen eingetreten. Die ungehärteten Öle, die mit den Schlundrohr in den leeren Magen eingegossen wurden, bewirkten in den verabreichten Mengen etwas häufiger Erbrechen. Dieser kleine Nachteil, daß ganz

[1]) Von dem englischen Komitee wurde weniger als 1 Teil in 10 Mill. Teilen gehärtetem Fett gefunden (a. a. O. S. 331).

[2]) a. a. O.

[3]) Von dem englischen Komitee wurde in einem gehärteten Leinöl 2,5 Teile Arsenik in 1 Mill. Teilen gefunden, während die daraus gewonnenen freien Fettsäuren 0,5 Teile und die Fettsäuren des gehärteten Waltrans 1 Teil enthielten.

vereinzelt nach der Fetteinverleibung Fett wieder herausgewürgt wurde, spricht aber nicht gegen die Brauchbarkeit der Versuchsgestaltung. Bei der Verabreichung der Fette im Futter geschieht es viel häufiger, daß Futter verspritzt, nicht völlig aufgefressen wird oder an den Futternapfwänden zurückbleibt; in diesen Fällen kann man nicht angeben, wieviel Fett in den Magen gelangt ist.

Die zum Versuch verwendeten Katzen, im Gewicht von 2,2 bis 3,75 kg, waren vorher zur Erzielung festen Kots mit Pferdefleisch und Wasser (nicht Milch) gefüttert worden; das Fett oder Öl wurde mit dem geschabten Pferdefleisch des täglichen Futters innig vermischt. Katzen sind erfahrungsgemäß gegen größere Mengen Fett sehr empfindlich; es bewirkten sowohl die gehärteten wie die ungehärteten Fette in größeren Mengen vorübergehend weichen, flüssigen oder diarrhoischen Kot. Diese Wirkung kommt den Fetten und Ölen an sich zu. Irgend welche den gehärteten Pflanzenölen eigentümlichen Wirkungen traten nicht auf (Zusammenstellung 5).

Die Darmentleerungen wurden auch bei dem einen Kaninchen, dem Baumwollsamenöl bestimmter Herkunft in Mengen von 30 g auf 1 kg Körpergewicht eingeführt worden war, diarrhoisch (Zusammenstellung 6).

Ebensowenig wie in den Versuchen an Kaninchen und Meerschweinchen mit subkutaner Einspritzung traten bei Meerschweinchen, denen die gehärteten Öle in Mengen von 5 bis 20 ccm (auf 1 kg Tiergewicht bezogen) in die Bauchhöhle eingespritzt wurden, irgendwelche Vergiftungserscheinungen auf. 10 der 19 Versuchstiere gingen am 4. bis 22. Tag nach der Einspritzung ein; die Sektion ergab peritonitische Erscheinungen mit blutigserösen Exsudaten, Verwachsungen u. a. m., ein Befund, der bei der Einspritzung nichtsteriler Flüssigkeiten nichts Überraschendes an sich hat. Mit der Anstellung derartiger Versuche an Meerschweinchen wird lediglich der Zweck verfolgt, das Auftreten akuter Giftwirkungen nach einmaliger Einspritzung in eine große Körperhöhle mit ausgedehnten Resorptionsflächen festzustellen. Bei den Versuchen des Gesundheitsamts hat sich diese Applikationsweise bei zahlreichen Stoffen zur Erkennung von Giftwirkungen auch bei kleinen Mengen (Eosin[1]), Petroleum[2]), Saprol[2]) u. a.) gut bewährt.

Um einen Vergleich zu haben, wie die gebräuchlichen Speisefette von verschiedenem Schmelzpunkt bei der Einspritzung in die Bauchhöhle wirken, sind in entsprechenden Versuchen (s. Tabelle 9) Butter, Schweineschmalz, Gänsefett, Rindertalg und Hammeltalg untersucht worden. Die drei letztgenannten Fette wurden im Fettgewebe (als sogenannte Liesen) gekauft und im Laboratorium geschmolzen und filtriert.

Die eingespritzten Mengen betrugen in der Regel 5 und 10 ccm auf 1 kg Körpergewicht, bei Gänsefett und Schweineschmalz bis 40, bei Butter bis zu 52 ccm. Ein Tier wurde zum Vergleich gehalten; es erhielt keine intraabdominale Einspritzung.

Anzeichen einer akuten Vergiftung traten in keinem Falle auf. Keines dieser Tiere verendete früher als am 11. Tag nach der Einspritzung, es war dasjenige Meerschweinchen, das 10 ccm Rindertalg (auf 1 kg berechnet) erhalten hatte. Am

[1]) E. Rost, Diese Arbeiten Bd. 40, 1912, S. 171.
[2]) E. Rost, Diese Arbeiten Bd. 47, 1914, S. 214.

21. Tag starb von den 4 Schweineschmalztieren dasjenige, dem die höchste Menge (40 ccm auf 1 kg) eingespritzt worden war. Von den 4 Buttertieren verendeten 3 nach 52, 25 und 36 ccm Butter auf 1 kg am 18., 23. bezw. 26. Tag. Nach der Einspritzung von Hammeltalg und von Gänsefett erlag keines der Tiere (38tägige Beobachtung) dem Eingriff.

Der Einfluß der Fette auf die Körpergewichte bei Einspritzung in die Bauchhöhle ergibt sich ebenfalls aus der Tabelle 9. Bei den Tieren, die verendet sind, ist überall eine Gewichtsverminderung eingetreten.

Bei der Sektion ergab sich einmal Darmverschluß mit den bekannten Folgeerscheinungen. Sonst fand man die Zeichen einer chronischen Entzündung mit blutig-seröser Flüssigkeit und zum Teil mit Verwachsungen. Eiterige Entzündung war niemals vorhanden. Feste, krümlige Reste der eingespritzten Fette waren bei jeder Sektion zu sehen, nur bei den Buttertieren fanden sich keine sichtbaren Fettreste im erkalteten Kadaver.

Schließlich wurden von den gehärteten Fetten alkoholisch-wässerige Auszüge hergestellt und auf Kaninchenblutkörperchen geprüft: sie zeigten keine hämolytische Wirkung.

Aus den im vorstehenden beschriebenen und durch die Zusammenstellungen im Anhang erläuterten Versuchen am Tier ergibt sich, daß den untersuchten gehärteten Pflanzenfetten, die im ungehärteten Zustand als indifferent bezeichnet werden können, weder örtlich reizende, noch allgemeine Giftwirkungen zukommen.

Außerdem sind einzelne dieser gehärteten Pflanzenfette einmal und wiederholt von Menschen genossen worden, ohne daß nach dem Genuß der Fette irgendwelche Störungen des Befindens, der Darmentleerung usw. eingetreten wären: Längere Zeit ist gehärtetes Baumwollsamenöl von mehreren Personen im Haushalt neben Schweinefett und Butter oder auch allein zum Braten und Kochen verwendet worden. Die Speisen (Braten, Eierspeisen, Gemüse usw.), die mit solchem gehärtetem Fett küchenmäßig zubereitet waren, zeigten keinen besonderen Geruch oder Geschmack und waren durch keinerlei Abweichungen von der sonstigen Beschaffenheit als solche, die mit gehärtetem Pflanzenfett bereitet waren, zu erkennen. Auch mit der Zeit stellten sich keine Anzeichen von Ekel ein; so bereitete Speisen wurden auch von Leichtkranken gern gegessen.

Neuerdings sind nun chemische und hygienische Untersuchungen gehärteter pflanzlicher Öle auch von anderer Seite ausgeführt worden, deren Ergebnisse hier besprochen werden sollen.

Franz Müller[1]) hat mit gehärtetem, aus den Bremen-Besigheimer Ölfabriken gelieferten Erdnuß-, Sesam- und Baumwollsamenöl Versuche an Hunden und am Menschen angestellt[2]). Zunächst wurden „mehrere Hunde einige Tage lang mit

[1]) Thoms und Franz Müller, Über die Verwendung gehärteter Fette in der Nahrungsmittelindustrie. Arb. a. d. Pharmazeut. Inst. der Univ. Berlin Bd. 11, 1914, S. 137 und Archiv für Hygiene Bd. 84, 1914, S. 54.

[2]) Die Versuche mit gehärtetem Walfischtran bleiben hier außer Betracht.

größeren Mengen" gehärteter Pflanzenfette gefüttert, die zu ihrem gewohnten Futter zugesetzt waren (nähere Angaben sind nicht gemacht). Sodann wurde bei zwei Hunden die Fettausnutzung im Darm untersucht, irgendwelche Schädigungen durch die Verfütterung der Fette, örtliche Reizungen oder resorptive Vergiftungserscheinungen traten nicht ein. Der eine Hund, im Gewicht von 7 kg, erhielt während 6 Tagen täglich 60 g gehärtetes Erdnußöl; in einem vorausgehenden gleichlangen Versuchsabschnitt wurde zum Vergleich ein aus Schweine- und Hammelfett hergestelltes Fettgemisch vom Schmelzpunkt 37° verfüttert. Die Fettausnutzung (wobei nicht der Ätherextrakt, sondern das daraus gewonnene reine Fett in Rechnung gesetzt wurde), betrug bei der im übrigen aus Pferdefleisch (mit einem Gehalt von fast 15 g Fett in der Tagesration) und Wasser bestehenden Nahrung beim gehärteten Erdnußöl 99,1% gegenüber 99,4% des zum Vergleich herangezogenen Fettgemisches in der Gesamtperiode (die Werte für die einzelnen Tage sind nicht angegeben). Ein zweiter Hund, der 22,5 kg schwer war, erhielt während 6 Tagen gehärtetes Sesamöl, während 4 weiteren Tagen gehärtetes Baumwollsamenöl und schließlich während 5 Tagen das genannte Fettgemisch, von jedem täglich 120 g; der Fettgehalt des verfütterten Fleisches betrug täglich 19—26 g. Die Fettausnutzung belief sich für die 3 Fette im Mittel der ganzen Versuchsabschnitte auf 94,4, 97,5 und 98,9%. Die niedrige Fettausnutzung des gehärteten Sesamöls (94,4%) wird vom Verfasser damit erklärt, daß das Versuchstier frisch eingeliefert und infolge der früheren Ernährungsweise noch nicht auf die Verarbeitung größerer Mengen Fett eingestellt war. In diesen Versuchen bestand also kein wesentlicher Unterschied in der Ausnutzung der zwei gehärteten pflanzlichen Öle und des Gemisches aus Schweinefett und Hammeltalg. Warum gehärtetes Erdnußöl (Versuch I) fast vollständig ausgenutzt wurde, während gehärtetes Sesam- und Baumwollsamenöl (Versuch II) weniger vollständig im Darm verwertet wurde, ist aus den kurzen Versuchsaufzeichnungen nicht ersichtlich. Von ersterem wurden fast 9 g, von letzterem etwas mehr als 5 (auf 1 kg Körpergewicht berechnet) verabreicht. Da Angaben über Menge des Kots, Trockensubstanz usw. in der Versuchsbeschreibung von Müller nicht gemacht sind, überhaupt nur die in den einzelnen Versuchsabschnitten verabreichten Mengen Fett und die Ausnutzungsgrößen für die Periode in Prozenten der Einnahme angegeben sind, lassen sich aus der Müllerschen Mitteilung keine weiteren Schlüsse über Beschaffenheit und Zusammensetzung der Darmentleerungen ziehen.

Die Tierversuche von K. B. Lehmann[1]) und Süßmann[2]) wurden an vier

---

[1]) K. B. Lehmann, Eignen sich die gehärteten Fette zum Genusse des Menschen? Chemiker-Zeitung 1914, Nr. 75 (23. Juni 1914).

[2]) Süßmann (unter K. B. Lehmann), Sind die gehärteten Öle für den menschlichen Genuß geeignet? Archiv für Hygiene Bd. 84, 1915, S. 121.

Von dem erwähnten Royal Committee haben Drummond und Halliburton Ratten u. a. mit gehärtetem Baumwollsamenöl lange Zeit gefüttert; das Fett wurde gut vertragen.

Smith, Miller und Hawk (zitiert nach Burns und Sharpe, Journ. of phys. Bd. 52, 1919, S. 334) haben die Ausnutzung des gehärteten Baumwollsamenöls beim Menschen zu über 90% gefunden.

Nach Hardy und Halliburton (zitiert bei Drummond) sind Fette Träger bestimmter Stoffe von unbekannter chemischer Natur, die aber absolut notwendig für das Wachstum

Hunden im Alter von ³/₄ bis 2 Jahren angestellt; je ein Tier erhielt Erdnußöl und Sesamöl und zwei Tiere Baumwollsamenöl, in gehärtetem Zustand. Gleichzeitig wurde ein Hund zum Vergleich mit Schweineschmalz gefüttert.

Die verabreichten Mengen gehärteter Öle betrugen für den Tag 2,3 bis 11,7 g Erdnußöl (155 Tage), 4,3 bis 12,2 g Sesamöl (150 Tage), 1,2 bis 9,0 g Baumwollsamenöl (18 und 118 Tage) und 4,3 bis 10,4 g Schweineschmalz (150 Tage), auf 1 kg Tiergewicht berechnet. Keiner der Hunde zeigte im Verlauf des ganzen Versuchs Erscheinungen, die auf eine Schädigung durch die aufgenommenen gehärteten Öle hindeuteten.

Ferner konnten die genannten Verfasser bei „keiner der zahlreichen Versuchspersonen, welche monatelang nur oder doch vorwiegend mit gehärteten Ölen zubereitete Speisen genossen", irgendwelche „Störungen der Verdauung oder des allgemeinen Wohlbefindens" feststellen.

Die von Franz Müller an zwei Versuchspersonen (61 und 31 Jahre alt) angestellten Stoffwechselversuche erstreckten sich auf im ganzen je 25 Tage; während 15 Tagen wurde gehärtetes Erdnuß-, Sesam- und Baumwollsamenöl in je 5-tägigen Versuchsabschnitten genossen. Die Ausnutzung der Fette bei gemischter Kost lag bei der ersten Person zwischen 94,6 und 96,4 %, während die zum Vergleich genossenen Gemische tierischer Fette, aus Schweinefett und Hammelfett, bei 37° und bei 40° schmelzend, zu 90,1 und 94,3 % ausgenutzt wurden. Bei der zweiten Person, die zum Vergleich im Anfang Schweineschmalz und am Schluß Hammeltalg-Schweineschmalzgemisch (Schmelzpunkt 40°) genoß, lagen die entsprechenden Werte bei den gehärteten Ölen zwischen 92,6 und 96,5 %, die des Schweinefetts bei 86,9, die des tierischen Fettgemisches bei 97,2 %. Wie bei den Versuchen am Hund sind auch hier keine Angaben über Menge, Wassergehalt und Trockensubstanz des Kots gemacht. Die erste Versuchsperson zeigte stets eine positive Stickstoffbilanz; das Körpergewicht (79,2 kg) nahm nach anfänglicher Abnahme um 250 g wieder zu (um 500 g), hielt sich also unverändert; die zweite Versuchsperson zeigte nach anfänglich negativer Stickstoffbilanz schließlich positive Werte, das Körpergewicht nahm im ganzen um 5100 g ab (Anfangsgewicht 78,7, Endgewicht 73,6 kg).

Schließlich ist noch die gesundheitliche Beurteilung eines etwaigen Gehalts der gehärteten pflanzlichen Öle an Nickel und Arsen zu besprechen. Hierzu muß vorweg bemerkt werden, daß die im Gesundheitsamt angestellten Tierversuche und die praktischen Erfahrungen am Menschen an sich von viel zu kurzer Dauer sind, um für die gesundheitliche Beurteilung eines Nickel- und Arsengehalts der gehärteten pflanzlichen Öle herangezogen zu werden, umsomehr, als nur eine Probe (Erdnußöl) nickelhaltig gefunden und lediglich mit ihr bestimmbare Mengen Nickel dem Ver-

sind (growth factor) und sich in animalischen Fetten finden. Für den Erwachsenen scheinen sie entbehrlich zu sein; ob der Körper in Genesungszuständen sie braucht, steht noch nicht fest. Drummond sieht, so erfreulich das Schwinden des Vorurteils gegen Margarine sei, in der Verwendung von Margarine lediglich aus pflanzlichen Fetten einen Umstand, der nicht frei von Gefahr für die Allgemeinheit ist. Margarine müsse unbedingt ausreichende Mengen Milchfett, Eigelb oder Rindertalg enthalten.

suchstier zugeführt wurden. Mit dem gehärteten Erdnußöl (in 1 kg 1,8 mg Nickel) sind in den Versuchen am Hund (Tabelle 3 und 4) im ganzen 3,6 bezw. 3,9 mg Nickel aufgenommen worden; das sind so geringe Mengen, daß nach dem ganzen toxikologischen Verhalten dieses Metalls Wirkungen von ihnen nicht zu erwarten sind.

Für den vorliegenden Sonderfall, wo nicht mit willkürlich wechselnden, mehr oder weniger schwankenden Nickelmengen zu rechnen ist, sondern mit solchen Mengen, die ungünstigenfalls einige wenige Milligramm in 1 kg Fett betragen, günstigstenfalls überhaupt nicht bestimmbar sind, wo überdies anzunehmen ist, daß es der Technik gelingen wird, vollständig oder praktisch nickelfreie Fette herzustellen, bedarf es weiterer Versuche nach dieser Richtung hin nicht. Die in der Fachliteratur aus früherer Zeit bereits vorliegenden Untersuchungen erscheinen ausreichend, um zu dem etwaigen Nickelgehalt vom gesundheitlichen Standpunkt aus Stellung zu nehmen.

Es kann zwar, wie zuerst von Stuart[1]) nachgewiesen wurde, durch dieses Metall ein eigenartiges schweres Vergiftungsbild beim Warmblüter hervorgerufen werden; es gelingt dies jedoch nur, wenn nichtätzende Nickeldoppelsalze in das Unterhautzellgewebe oder unmittelbar in die Blutbahn eingespritzt werden. Vom Magen her hat sich im Tierversuch eine Allgemeinvergiftung durch die Nickelverbindungen nicht erzeugen lassen. Nach den Untersuchungen von K. B. Lehmann[2]) kommt den Nickelverbindungen bei langdauernder innerlicher Darreichung von Nickelsalzen (6—10 mg Ni auf 1 kg Katze oder Hund an 100—200 Tagen) eine erkennbare Giftwirkung nicht zu. Auch hat der Genuß von Speisen, die in Nickelgeschirren zubereitet werden[3]) und nach den Angaben der Fachliteratur aus diesen Geschirren[4]) nicht unerhebliche Nickelmengen aufnehmen, bisher zu Bedenken gesundheitlicher Natur keine Veranlassung gegeben[5]).

Bei den neuerlichen Versuchen K. B. Lehmanns und Süßmanns, bei denen die Tiere auf 1 kg und den Tag durchschnittlich 0,034 (Versuch 1), 0,009 (Versuch 2), 0,0018 (Versuch 3) und 0,0027 mg (Versuch 4), im ganzen 41 mg Nickel (für alle 4 Tiere) erhielten, machten sich keinerlei Abweichungen von der Norm geltend.

In der Annahme, daß die etwa täglich aufgenommene Menge Fett beim erwachsenen Menschen 150 g kaum übersteigen wird, würde, selbst wenn ausschließlich das sehr kleine Mengen Nickel enthaltende gehärtete Erdnußöl von der Beschaffenheit der im Gesundheitsamt untersuchten Probe genossen werden sollte, die täglich mit einer solchen Menge Fett zur Aufnahme kommende Nickelmenge auf etwa 0,3 mg zu veranschlagen sein. Nach dem heutigen Stand der wissenschaftlichen Forschung und der praktischen Erfahrung ist von solchen kleinen Mengen Nickel in den gehärteten

[1]) Stuart, Über den Einfluß der Nickel- und der Kobaltverbindungen auf den tierischen Organismus. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol Bd. 18, 1884, S. 151.

[2]) K. B. Lehmann, Hygienische Studien über Nickel. Archiv für Hygiene Bd. 68, 1909, S. 421.

[3]) Rhode, Über die Angreifbarkeit der Nickel-Kochgeschirre durch organische Säuren. Archiv für Hygiene Bd. 9, 1889, S. 331.

[4]) K. B. Lehmann berechnet, daß in die Tagesportion der Nahrung unter Umständen leicht Mengen von über 100 mg Nickel übergehen können.

[5]) Gesundheitsbüchlein, bearbeitet im Reichsgesundheitsamt, 17. Ausg., 1917, S. 105.

Fetten eine Schädigung der menschlichen Gesundheit nicht zu befürchten. Das gleiche gilt von den etwas größeren Mengen Nickel, die von Thoms und Müller (0,83—3,8 mg auf 1 kg) und von K. B. Lehmann und Süßmann (0,07—6 mg auf 1 kg) in einzelnen Fettproben gefunden worden sind[1]).

Hinsichtlich der hygienischen Beurteilung eines etwaigen Arsengehalts in gehärteten pflanzlichen Ölen wird eine weit strengere Auffassung Platz greifen müssen, da Speisefette einen Hauptbestandteil der täglichen Nahrung bilden. Legt man die im Gesundheitsamt gefundene Höchstzahl von 0,15 mg Arsen in 1 kg Fett (1,52 mg Arsen in 1 kg mit Öl vermischtem Nickel-Katalysator, 0,456 mg Arsen in 1 kg des den Katalysator noch enthaltenden Fettes) zugrunde, so würde ein Mensch, der seinen gesamten Bedarf an Nahrungsfett ausschließlich durch dieses gehärtete Fett deckt, mit etwa 100 bis 150 g Fett täglich 0,015 bis 0,022 mg Arsen (0,02 bis 0,03 mg arsenige Säure) aufnehmen, Mengen, die selbst bei fortgesetzter Zufuhr nicht als gesundheitsschädlich angesehen werden können[2]).

Von gehärteten Speisefetten, die hinsichtlich eines Arsengehalts den Reinheitsgrad der untersuchten Probe zeigen, ist in dieser Hinsicht eine gesundheitliche Schädigung nicht zu erwarten.

II. Sesamöl.

Anlaß zur Untersuchung dieses Öls gaben die Veröffentlichungen Rautenbergs[3]), nach denen die Anwendung von Sesamöl zu Einläufen beim Menschen in mehreren Fällen zu eigenartigen Vergiftungserscheinungen geführt hatte. Die Erkrankung verlief unter dem Bild einer Methämoglobinvergiftung, die später auch festgestellt wurde. Rautenberg sah die Ursache hierfür in dem höchstwahrscheinlich verunreinigten Sesamöl, das gleichzeitig mit Wismutsubnitrat angewendet wurde, während der zuletzt von Rautenberg beschriebene Fall wohl als eine Nitritvergiftung anzusprechen ist.

Da es nicht möglich war, Sesamöl, das zu den erwähnten Erkrankungsfällen geführt hatte, zu erlangen, wurden Proben verschiedenen Reinheitsgrads und verschiedener Bezugsquellen beschafft. Im ganzen kamen 13 Proben zur Untersuchung. Je 3 Proben waren aus 2 Margarinefabriken beschafft, 1 Probe stammte aus den Vorräten des Gesundheitsamts; je 2 Proben waren aus Berliner Apotheken, Berliner Drogengeschäften und von Großdrogenhäusern bezogen. Die Zahl der an Hunden, Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen angestellten Versuche betrug 41.

Spezifisches Gewicht, Säuregrad und Ergebnis der Furfurolreaktion der Sesamölproben sind in den Zusammenstellungen 10 und 11 (Anhang) angegeben.

---

[1]) Nach Cushny (Bericht des englischen Komitees a. a. O. S. 332) sind Mengen unter 10 Teilen Nickel auf 1 Mill. Teile gehärtetes Fett unschädlich für die Gesundheit.

[2]) Auch Halliburton (dieser Bericht S. 333) fordert, dem Arsengehalt der gehärteten Fette besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden; Cushny hält einen Gehalt von 1 Teil Arsenik in 1 Mill. Teilen gehärtetem Fett für ganz harmlos.

[3]) E. Rautenberg, Über Blutvergiftungen durch Sesamöl. Arch. f. klin. Med. Bd. 68, 1905, S. 294 und Methämoglobinvergiftung durch Sesamöl. Berl. kl. Wochenschr. 1906, S. 1397.

Die Einführung des Sesamöls (bis zu 300 ccm) in den Dickdarm geschah mit Hilfe eines langen Einlaufrohrs. Das Auspressen des Darminhalts wurde sodann durch einen zweckmäßig angelegten Verband verhindert; der Hund lag in der Regel stundenlang in Seitenlage ruhig auf dem Tisch. Die Kaninchen unter die Haut gespritzte Ölmenge betrug 150—200 ccm, Meerschweinchen wurden 10—20 ccm in die Bauchhöhle eingeführt.

Die spektroskopische Untersuchung des Bluts auf das Vorhandensein von Methämoglobin erfolgte mit verschiedenen Prismenapparaten bei verschiedener Schichtdicke und Spaltbreite, überhaupt unter Beachtung der früher von Rost und seinen Mitarbeitern [1]) gegebenen Vorsichtsmaßregeln.

Die Beobachtung erstreckte sich durchweg auf mehrere, bisweilen bis auf 18 Tage.

Der Blutbefund in den Versuchen mit Sesamölproben von Margarinefabriken war durchweg normal. Dagegen wiesen einige der Kaninchen, die unter die Haut Öl von der Probe C oder D eingespritzt erhalten hatten, einen eigentümlichen Absorptionsstreifen im Rotorange auf; andere gleichbehandelte Kaninchen zeigten diesen Blutbefund niemals. Die Proben C und D des Sesamöls wiesen einen höheren Säuregrad auf als die übrigen, nämlich 11,87 und 7,79, während er bei den übrigen Proben niemals 7 erreichte. Dieselbe Absorptionserscheinung war von uns auch bei Kaninchen beobachtet worden, die mit Ameisensäure oder Essigsäure behandelt worden waren [2]); auch hier war der Streifen nach Lage Breite und Verhalten zu Reagentien (Ammoniak) nicht identisch mit dem Methämoglobinstreifen. Vermutlich ist der hohe Säuregrad der betreffenden Sesamölproben im Zusammenhang mit unbekannten Nahrungseinflüssen für die veränderte Blutbeschaffenheit der Kaninchen verantwortlich zu machen.

Messungen der Körpertemperatur ergaben keinen Einfluß der eingeführten großen Mengen Sesamöl.

Nur ein Tier verendete innerhalb einiger Tage. Es war dies das Kaninchen (2150 g), das 200 ccm einer Sesamölprobe von beträchtlichem Säuregrad (45,63) erhalten hatte (Zusammenstellung 10).

Ebensowenig zeigte der spektroskopische Blutbefund Abweichungen, als Sesamöl, mit Wismutsubnitrat und faulendem Fleisch versetzt, Hunden in den Dickdarm eingeführt wurde; es fehlten insbesondere alle Anzeichen für eine Methämoglobinbildung wie sie sich durch Einführung von Natriumnitrit und Salzsäure vom Mastdarm aus erzeugen ließ (Zusammenstellung 12) und deren spektroskopischer Befund veröffentlicht worden ist [3]).

Die Bedingungen für die Entstehung einer Nitritvergiftung bei Einführung größerer Mengen von Wismutsubnitrat in den Magen sind bekannt und in erster Linie in Säureeinwirkung zu suchen; eine Nitritvergiftung ist bei den entsprechenden Versuchen der Zusammenstellung 13 zwar nicht eingetreten; immerhin könnte Rautenbergs letztbeschriebener Fall als Nitritvergiftung gedeutet werden, da es nicht ausgeschlossen

[1]) Diese Arbeiten Bd. 32, 1909, S. 268.
[2]) Ebenda S. 272.
[3]) Ebenda Tafel VIII. B.

(Fortsetzung des Textes S. 208.)

Anhang,

enthaltend Versuchsprotokolle, betr. die gehärteten Pflanzenöle (Zusammenstellung 1—8), einige zu Vergleichszwecken geprüfte Fette (Zusammenstellung 9) und 13 Proben Sesamöl (Zusammenstellung 10—12), nebst einer Übersicht über die physikalischen und chemischen Konstanten der untersuchten gehärteten pflanzlichen Fette, sowie ihre Nickel- und Arsengehalte (Zusammenstellung 13).

I. Gehärtete Pflanzenöle.

Zusammenstellung 1.

Gehärtetes Leinöl, Erdnußöl und Baumwollsamenöl.

Versuche an Hunden von 40 und 10 kg Gewicht mit Einführung der Fette in den Magen.

(Das Fett wird in Nudelform den Tieren in die Speiseröhre eingeschoben. Die gewohnte Fütterung erfolgt nachmittags gegen 3 Uhr.)

Versuchstag 1914	Gewicht des Tieres g	Fütterungszustand des Tieres	In den Magen eingeführtes Fett			Verhalten des Tieres
			Art	Menge g	auf 1 kg Körpergewicht g	
	Hund M					
19. 3. 10 h vorm.	40 000	nüchtern	geh. Baumwollsamenöl	300	7,5	kein Erbrechen, keine Diarrhöe, keine sonstigen Erscheinungen
21. 3. 10 h vorm.	39 500	„	desgl.	500	12,5	
1. 5. 11 h vorm.	40 000	„	geh. Erdnußöl	300 [1])	7,5	
27. 6. 2 h nachm.	41 000	„	geh. Leinöl	500	12,2	
	Hund 251					
27. 4.	9 800	„	„	150	15	desgl.
28. 4.	9 800	„	„	150	15	

Zusammenstellung 2.

Gehärtetes Baumwollsamenöl.

Versuche an zwei etwa 7 kg schweren Hunden mit Einführung des Fettes in den Magen an 17 Tagen.

(Das Fett wird in Nudelform den Tieren in die Speiseröhre eingeschoben, 5 bis 10 Minuten vor der gewohnten Fütterung.)

Versuchstag 1914	Gewicht des Tieres Nr. 234 g	Eingeführtes Fett Menge g	Gewicht des Tieres Nr. 235 g	Eingeführtes Fett Menge g	Verhalten der Tiere
4. 3.	7050	150 = 21 g auf 1 kg Körpergewicht	7250	150 = 20 g auf 1 kg Körpergewicht	
5. 3.	7250	150	7300	150	
6. 3.	7250	150	7400	150	Hund Nr. 234: geringes Erbrechen
7. 3.	7200	150	7600	150	

[1]) Nickelgehalt: 0,54 mg.

Versuchstag 1914	Gewicht des Tieres Nr. 234 g	Eingeführtes Fett Menge g	Gewicht des Tieres Nr. 235 g	Eingeführtes Fett Menge g	Verhalten der Tiere
9. 3.	7250	150	7500	150	
10. 3.	7600	150	7900	150	
11. 3.	7850	150	8000	150	Hund Nr. 235 frißt gierig das gewohnte Futter, legt sich auf die Seite und winselt, Zustand geht schnell vorüber
12. 3.	8000	150	8300	150	
13. 3.	8100	150	8250	150	
14. 3.	8100	150	8200	150	sonst kein von dem gewohnten abweichendes Verhalten
16. 3.	8300	150	8200	150	
17. 3.	8300	150	8200	150	
18. 3.	8400	150	8200	150	
19. 3.	8450	150	8200	150	
20. 3.	8500	150	8200	150	
21. 3.	8500	150	8200	150	
23. 3.	8600	150	8100	150	
		insges. 2550 g Fett		insges. 2550 g Fett	

Zusammenstellung 3.

Gehärtetes Erdnußöl[1]).

Versuche an einem etwa 7,5 kg schweren Hunde mit Einführung des Fettes in den Magen an 13 Tagen.

(Das Fett wird in Nudelform dem Tiere in die Speiseröhre eingeschoben, 5 bis 10 Minuten vor der gewohnten Fütterung.)

Versuchstag 1914	Gewicht des Tieres Nr. 235 g	In den Magen eingeführtes Fett: Menge g	In den Magen eingeführtes Fett: auf 1 kg Körpergewicht g	Verhalten des Tieres
15. 4.	7550	150	20	
16. 4.	7750	150		
17. 4.	7800	150		
18. 4.	7900	150		
20. 4.	7950	150		
21. 4.	8000	150	19	kein von dem gewohnten abweichendes Verhalten
22. 4.	8100	150		
23. 4.	8150	150		
24. 4.	8150	150		
25. 4.	8200	150		
27. 4.	8200	150		
28. 4.	8150	150		
29. 4.	8150	150		
		Gesamtaufnahme 1950 g mit einem Nickelgehalt von 3,5 mg		

[1]) Das Fett enthielt in 1 kg 1,8 mg Nickel.

Zusammenstellung 4. Vergleichende Versuche (Leinöl, Baumwollsamenöl,
Versuche an etwa 7 bis 11 kg schweren Hunden mit
(Das Fett wird am ersten Tag vormittags, sonst stets kurz vor der gewohnten Fütterung nach-
gehärteten Fette in Nudelform

Versuchstag	Leinöl				Baumwollsamenöl			
	gehärtet		nichtgehärtet		gehärtet		nichtgehärtet	
	Gewicht des Tieres Flock	Eingeführtes Fett Menge	Gewicht des Tieres Nr. 237	Eingeführtes Öl Menge	Gewicht des Tieres Fiß	Eingeführtes Fett Menge	Gewicht des Tieres	Eingeführtes Öl Menge
1914	g	g	g	g	g	g	g	g
12. 6.	9 600	150	8 050	150	8 800	150	7 200	150
13. 6.		150		150		150		150
15. 6.		150		150		150		150
16. 6.	10 000	150	8 600 [1])	150	9 200	150	7 950	150
17. 6.	10 000	150	8 400	—	9 300 [1])	150	8 200	—
18. 6.	9 800	150	8 400	150	9 400	150	7 900	150
19. 6.	9 800	150	8 500	—	9 600	150	8 000	—
20. 6.	9 900	150	8 550	—	9 800	150	8 100	—
22. 6.	10 000	150	8 500	150	9 800	150	8 100	150
23. 6.	10 000 [1])	200	8 600	200	10 000	200	8 300	200
24. 6.	9 900	200	8 700	200	10 200	200	8 400	200
25. 6.	9 800 [2])	200	8 900	200	10 500	200	8 300	200
26. 6.	9 500	100	8 800	100	10 500	100	8 400	100
27. 6.	9 000	100	8 700	100	10 600	100	8 750	100
	insgesamt:	2 150 g		1 700 g		2 150 g		1 700 g

Zusammenstellung 5.

Vergleichende Versuche mit pflanzlichen Ölen **vor** und **nach der Härtung.**

(Leinöl, Baumwollsamenöl, Sesamöl und Erdnußöl.)

Versuche an 2,2 bis 3,75 kg schweren Katzen.

(Die Fette werden mit dem Futter den Tieren verabreicht.)

Versuchstag	Fett						Verhalten des Tieres
	gehärtetes Fett			nichtgehärtetes Öl			
	Gewicht des Tieres	im Futter gefressen	auf 1 kg Körpergewicht	Gewicht des Tieres	im Futter gefressen	auf 1 kg Körpergewicht	
1914	g	g	g	g	g	g	
		I. Leinöl:					
27. 4. 10ʰ vorm.	2 650	26	10	—	—	—	Das Futter, aus gleichen Teilen Fett (geschmolzen) und geschabtem Pferdefleisch bestehend, wird schnell gefressen. Am folgenden Morgen noch kein Kot. Der später entleerte Kot ist fest.
27. 4. 10ʰ vorm.	2 850	56	20	—	—	—	Das Futter, wie vorher bereitet, wird gierig gefressen. Nachm. 3 Uhr teils fester (pechschwarzer, glänzender), teils dünnflüssiger (grünschwarzer) Kot.
12. 6. 11ʰ vorm.	2 900	58	20	3 500	70	20	Das Futter (das gehärtete Fett wird mit gleichen Teilen Pferdefleisch, das Öl mit 100 g Pferdefleisch und 5 g Weizenmehl gemischt) wird schnell gefressen. Über Nacht zeigen beide Tiere starke Diarrhöe.

[1]) Erbrechen.

[2]) Das eingeschobene Fett wird unmittelbar nach dem Einstopfen wieder herausgewürgt.

mit pflanzlichen Ölen **vor** und **nach der Härtung.**

Sesamöl und Erdnußöl.)

Einführung der Fette in den Magen an 14 (11) Tagen.

mittags verabreicht; die nichtgehärteten Öle werden mit der Schlundsonde in den Magen, die in das Schlundrohr eingeführt.)

Sesamöl				Erdnußöl			
gehärtet		nichtgehärtet		gehärtet		nichtgehärtet	
Gewicht des Tieres g	Eingeführtes Fett Menge g	Gewicht des Tieres Nr. 251 g	Eingeführtes Öl Menge g	Gewicht des Tieres Nr. 226 g	Eingeführtes Fett Menge g	Gewicht des Tieres Nr. 228 g	Eingeführtes Öl Menge g
9 000	150	10 100	150	10 500	150	10 700 [1])	150
—	150	—	150	—	150	—	150
—	150	—	150	—	150	—	150
9 700	150	10 150	150	10 950	150	10 800	150
9 700	150	9 800	—	10 900	150	10 900	—
9 600	150	9 950	150	11 150	150	11 000	150
9 700	150	10 000	—	11 200	150	11 100	—
9 700	150	10 200	—	11 200	150	11 300	—
9 600	150	10 100	150	10 800	150	11 400	150
9 400	200	10 200	200	11 300	200	11 700 [1])	200
9 500	200	10 300 [1])	200	11 200	200	11 950	200
9 200 [1])	200	10 300 [1])	200	11 200	200	11 700	200
9 000	100	10 400	100	11 500	100	12 000	100
9 000	100	10 100	100	11 200	100	12 500	100
	2 150 g		1 700 g		2 150 g mit rund 3,9 mg Ni		1 700 g

Versuchstag 1914	Fett						Verhalten des Tieres
	gehärtetes Fett			nichtgehärtetes Öl			
	Gewicht des Tieres g	im Futter gefressen g	auf 1 kg Körpergewicht g	Gewicht des Tieres g	im Futter gefressen g	auf 1 kg Körpergewicht g	
	II. Baumwollsamenöl:						
20. 1. 11^h vorm.	2 200	44	20	—	—	—	Das Futter, wie oben bereitet, wird schnell gefressen. Nachm. 3 Uhr halbflüssiger Kot, nachts starke Diarrhöe.
31. 1. 4^h nachm.	2 600	52	20	—	—	—	Das Futter, wie oben bereitet, wird gierig gefressen. Kot nicht völlig fest.
18. 6. 4^h nachm.	2 800	42	15	3000	45	15	Das Futter, mit gleichen Teilen Pferdefleisch und 1 Eidotter gemischt, wird schnell gefressen. Kot fest.
	III. Sesamöl:						
15. 6. 4^h nachm.	2 500	37	15	2 500	37	15	Das Futter, wie vorher bereitet, wird schnell gefressen, vom ölhaltigen Futter wird ein kleiner Rest übriggelassen. Kot fest.
	IV. Erdnußöl:						
15. 4. 11^h vorm.	3 750	37	10	3 150	(62) 47	15	Das Futter, wie oben bereitet, wird schnell gefressen; von dem Futter mit der größeren Fettmenge werden etwa 30 g (= 15 g Fett) übriggelassen. Bis zum nächsten Vormittag kein Kot; der später entleerte ist fest.
22. 6. 3^h nachm.	2 550	40	15	2 600	40	15	Das Futter, mit gleicher Menge Pferdefleisch, 5 g Mehl und 20 ccm Wasser bereitet, wird schnell gefressen. Kot zeigt teils feste, teils flüssige Anteile.

Zusammenstellung 6.

Gehärtetes Baumwollsamenöl bestimmter Herkunft.

Versuchstag 1914	Tier: Art	Tier: Körpergewicht g	Fett: Art der Einführung	Fett: Menge g	Fett: auf 1 kg Körpergewicht g	Verhalten des Tieres
2. 4. 1h nachm.	Hund	7800	Magen (als Nudel eingestopft).	130	17	Kot geformt. Keinerlei abweichendes Verhalten.
20. 1. 11h vorm.	Katze	2900	Magen (im Futter, m. gleicher Menge Pferdefleisch gemischt.)	58	20	Kot geformt. Keinerlei abweichendes Verhalten. Gewicht am 21. 1.: 3000 g.
4. 3. 11h vorm.	„	2600	desgl.	52	20	Futter wird langsam gefressen. Über Nacht viel fester, wenig diarrhöischer Kot.
4. 3. 11h vorm.	„	2900	„	60	20	Futter wird erst nach Stunden aufgefressen. Über Nacht neben wenig festem reichlich diarrhöischer Kot.
11. 3. 11h vorm.	„	3450	„	(103) 93	27	4–6 diarrhöische Kothaufen im Käfig gefunden.
11. 3. 11h vorm.	„	3150	„	46	15	1 breiförmiger Kothaufen während der Nacht.
21. 3.	„	3200	„	32	10	Das Tier, das vorher 40 Std. keinen Kot entleert hatte, setzt festen Kot ab.
4. 3.	Kaninchen	2100	In den Magen mit Wasser gemischt durch die Schlundsonde.	63	30	Diarrhöen. 200 g Körpergewichtsabnahme, keine Vergiftungserscheinungen.
21. 3.	„	4200	Unter d. Bauchhaut an 8 Stellen eingespritzt.	42	10	Nach 2 Tagen: 400 g Gewichtsabnahme, keine Vergiftungserscheinungen.
19. 3.	Meerschweinchen	400	Unter die Haut.	4 ccm	10	
20. 3.		400				
31. 3.		450				

Zusammenstellung 7.

Gehärtetes Baumwollsamenöl, Leinöl, Erdnußöl, Sesamöl.

Versuche an Meerschweinchen mit Einführung der geschmolzenen Fette in die Bauchhöhle (bezw. unter die Haut).

I. Gehärtetes Baumwollsamenöl.

Tage nach der Einspritzung 1914	Versuch 1: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett ccm	Versuch 1: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 2: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett ccm	Versuch 2: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 3: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett ccm	Versuch 3: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 4: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett ccm	Versuch 4: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 5: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett ccm	Versuch 5: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 6: Unter die Bauchhaut eingespritzte Menge Fett ccm	Versuch 6: Körpergewicht des Tieres g
	5,7 = 10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	570	7,5 = 15 ccm auf 1 kg Körpergewicht	500	5,1 = 15 ccm auf 1 kg Körpergewicht	340	8,0 = 20 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400	8,0 = 20 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400	4,0 = 10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400
1		550		480		300		370		380		400
2		510		460		310		370		370		400
3		520		450		310		380		300		410
6		550		460		320		370		280		450
8		550		440		330		370		280		

I. Gehärtetes Baumwollsamenöl (Forts.).

Tage nach der Einspritzung 1914	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3		Versuch 4		Versuch 5		Versuch 6	
	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	Unter die Bauchhaut eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres
	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g
10	—	520	—	420	—	350	—	400	—	früh † aufgef. Fremdkörperperitonitis	—	450
15	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
20	—	—	—	—	—	380	—	460	—			
21	—	—	—	—	—	—	—	450	—			
22	—	500	—	450	—	Lebt	—	450 † Peritonitis	—			

	II. Gehärtetes Leinöl				II. Gehärtetes Erdnußöl				IV. Gehärtetes Sesamöl.				
	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 1		Versuch 2		Versuch 1 1915		Versuch 2 1915		Versuch 3
	3,2 = 5 ccm auf 1 kg Körpergewicht	650	6,5 = 10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	650	3,0 = 5 ccm auf 1 kg Körpergewicht	600	4,1 = 10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	410	11 ccm = 25 ccm auf 1 kg Körpergewicht	455	19 ccm = 35 ccm auf 1 kg Körpergewicht	530	530
1		580		540		560		370		460		540	520
2		570		520		580		360		440		480	490
3		580		480		570		370		440		480	460
4		500		540		—		—		450		†	420
5		† Fremdkörperperitonitis		550		540		380		450	In dem erkalteten Kadaver finden sich große erstarrte Fettstücke		420
9				550		530		390		350			†
10				—		—		—		355 †			
13				—		550		400					

Zusammenstellung 8.
Gehärtetes Baumwollsamenöl bestimmter Herkunft (Brebesol).
Versuche an Meerschweinchen mit Einführung der geschmolzenen Fette in die Bauchhöhle.

Tage nach der Einspritzung 1914	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3		Versuch 4	
	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge Fett	Körpergewicht des Tieres
	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g
	2,2 = 5 ccm auf 1 kg Körpergewicht	450	4 = 10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400	6,75 = 15 ccm auf 1 kg Körpergewicht	450	6 = 15 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400
1		410		360		410		380
9		450		350		360		400
13		—		—		—		450
15		450		370		450	Am 14. Tag: † aufgefunden (Peritonitis)	
16		—		—	Am 15. Tag: † aufgefunden (Peritonitis)			
19		480		400				

Tage nach der Einspritzung 1914	Versuch 5		Versuch 6	
	6,5 = 15 ccm auf 1 kg Körpergewicht	650	9,7 = 15 ccm auf 1 kg Körpergewicht	640
1		620		600
2		570		570
3		550	Am 6. Tag: früh † aufgef. (Peritonitis)	550
6		400		500
8		470		
9		460		
10	Am 10. Tag: früh † aufgef. (Peritonitis)			

II. Bisher schon gebräuchliche Speisefette.

Zusammenstellung 9.

Vergleichsversuche mit Butter, Schweineschmalz, Gänsefett, Rindertalg und Hammeltalg.

Versuche an Meerschweinchen mit Einführung der geschmolzenen Fette in die Bauchhöhle.

Tage nach der Einspritzung	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3		Versuch 4	
	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge	Körpergewicht des Tieres	In die Bauchhöhle eingespritzte Menge	Körpergewicht des Tieres
1915	ccm	g	ccm	g	ccm	g	ccm	g
				I. Butter.				
	10 ccm = 25 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400	15 ccm = 36 ccm auf 1 kg Körpergewicht	410	20 ccm = 42 ccm auf 1 kg Körpergewicht	470	30 ccm = 52 ccm auf 1 kg Körpergewicht	570
1		430		445		480		590
2		420		440		485		570
3		400		410		490		590
4		430		450		500		625
5		430		440		490		610
10		430		420		480		520
15		430		420		470		500
18		420		430		470		490
20		360		410		460		†
23		320		380		450		
26		†		320		420		
29		—		†		420		
					Versuch abgebrochen.			
				II. Schweineschmalz.				
	5 ccm = 12,5 ccm auf 1 kg Körpergewicht	405	10 ccm = 25 ccm auf 1 kg Körpergewicht	400	15 ccm = 29 ccm auf 1 kg Körpergewicht	520	20 ccm = 40 ccm auf 1 kg Körpergewicht	500
1		410		385		510		485
2		410		370		500		490
3		420		340		540		520
4		440		365		530		470
5		410		390		520		510
10		400		380		530		520
15		420		380		550		540
20		400		380		560		480
21		430		370		560		460
25		400		380		510		†
29		410		390		530		

Versuch abgebrochen.

Tage nach der Einspritzung 1915	Versuch 1: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge ccm	Versuch 1: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 2: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge ccm	Versuch 2: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 1: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge ccm	Versuch 1: Körpergewicht des Tieres g	Versuch 2: In die Bauchhöhle eingespritzte Menge ccm	Versuch 2: Körpergewicht des Tieres g
	III. Gänsefett.				IV. Rindertalg.			
	10 ccm =	470	20 ccm =	510	2 ccm =	380	7,3 ccm =	730
1	21 ccm auf 1 kg Körpergewicht	—	40 ccm auf 1 kg Körpergewicht	—	5 ccm auf 1 kg Körpergewicht	—	10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	—
2		480		520		350		620
3		470		520		380		620
4		450		520		380		600
5		470		520		360		580
10		470		550		380		560
11		440		510		390		525 †
15		410		470		360		
20		450		440		380		
30		440		470		420		
38		470		520		420		
	V. Hammeltalg.							
	2,3 ccm =	460	4,8 ccm =	480				
1	5 ccm auf 1 kg Körpergewicht	—	10 ccm auf 1 kg Körpergewicht	—				
2		440		460				
3		430		460				
4		440		450				
5		450		470				
10		420		490				
15		410		430				
20		400		430				
30		390		410				
38		380		440				

III. 13 Sesamöl-Proben des Handels.

Zusammenstellung 10. Sesamöl verschiedenen Reinheitsgrades. Versuche an Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen bei verschiedener Einverleibungsart.

Herkunft und Bezeichnung der Sesamölprobe	Eigenschaften der Ölprobe: Furfurol-Reaktion	Spez. Gew.	Säuregrad	Tier: Art	Körpergewicht g	Ort der Einverleibung	Menge des eingeführten Öls ccm	Verhalten des Tieres, insbes. spektroskopischer Blutbefund
Margarinefabrik A. Ölprobe I (hellgelb)	+	0,9225	4,11	Hund	10 000	Dickdarm	250	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal
				Meerschweinchen	400	Bauchhöhle	20	„
				Kaninchen	2 900	Unterhautzellgewebe	200	„
desgl. Ölprobe II (hellgelb)	+	0,9219	5,41	Hund	6000	Dickdarm	250	desgl.
				Meerschweinchen	420	Bauchhöhle	20	„
				Kaninchen	2230	Unterhautzellgewebe	150	„

Herkunft und Bezeichnung der Sesamölprobe	Eigenschaften der Ölprobe			Tier		Ort der Einverleibung	Menge des eingeführten Öls	Verhalten des Tieres, insbes. spektroskopischer Blutbefund
	Furfurol-Reaktion	Spez. Gew.	Säuregrad	Art	Körpergewicht g		ccm	
Margarinefabrik A. Ölprobe III (bräunlichgelb)	+	0,9224	13,55	Hund	7000	Dickdarm	200	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal
				Meerschweinchen	320	Bauchhöhle	20	„
				Kaninchen	1970	Unterhautzellgewebe	150	„
Margarinefabrik B. Ölprobe I (hellgelb)	+	0,9220	3,44	Hund	8000	Dickdarm	300	desgl.
				„	7000	„	200	„
				Meerschweinchen	400	Bauchhöhle	20	„
				Kaninchen	1860	Unterhautzellgewebe	150	„
				„	1900	„	200	„
desgl. Ölprobe II (dunkelgelb)	+	0,9221	8,57	Hund	8000	Dickdarm	200	desgl.
				Meerschweinchen	420	Bauchhöhle	20	„
				Kaninchen	1830	Unterhautzellgewebe	150	„
				„	2500	„	200	„
desgl. Ölprobe III[1]) (bräunlich, trüb)	+	0,9246	45,63	Hund	7000	Dickdarm	300	desgl.
				Meerschweinchen	400	Bauchhöhle	10	„
				Kaninchen	1700	Unterhautzellgewebe	125	„
				„	2150	„	200	nach etwa 36 Std. † aufgefunden; Blutbefund normal

Zusammenstellung 11.

Sesamöl, aus Apotheken, Drogengeschäften und Großhandlungen bezogen. Versuche an Hunden, Kaninchen und Meerschweinchen bei verschiedener Einverleibungsart.

Bezugsquelle und Bezeichnung der Sesamölprobe	Eigenschaften der Ölprobe			Tier		Ort der Einverleibung	Menge des eingeführten Öls	Verhalten des Tieres, insbes. spektroskopischer Blutbefund
	Furfurol-Reaktion	Spez. Gew.	Säuregrad	Art	Körpergewicht g		ccm	
Berlin-Lichterfelde Apotheke. Probe A.	+	0,9228	6,91	Hund	11 000	Dickdarm	300	Keine Vergiftungserscheinungen; Blutbefund normal.
				Meerschweinchen	350	Bauchhöhle	10	„
				Kaninchen	3250	Unterhautzellgewebe	200	Beobachtungsdauer: 16 Tage. Keine Vergiftungserscheinungen; Blutbefund normal.
Berlin-Lichterfelde Drogengeschäft. Probe B.	+	0,9227	6,73	Hund	8500	Dickdarm	300	Keine Vergiftungserscheinungen; Blutbefund normal.
				Meerschweinchen	240	Bauchhöhle	10	„
				Kaninchen	2780	Unterhautzellgewebe	200	„

[1]) Die Probe hatte fast zwei Jahre lang in dem Keller des Laboratoriums gelagert.

Bezugsquelle und Bezeichnung der Ölprobe	Eigenschaften der Ölprobe			Tier		Ort der Einverleibung	Menge des eingeführten Öls	Verhalten des Tieres, insbesondere spektroskopischer Blutbefund
	Furfurolreaktion	Spez. Gew.	Säuregrad	Art	Körpergewicht g		ccm	
Aus den Vorräten des Ges.-Amts, Probe C, mehrere Jahre alt	+	0,9209	11,87	Hund	9200	Dickdarm	300	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
				"	11000	Unterhautzellgewebe	400	Tier ist infolge der angewandten Chloroformnarkose matt und benommen, Blutbefund normal.
				Meerschweinchen	330	Bauchhöhle	10	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
				"	400	"	20	desgl.
				Kaninchen	2000	Unterhautzellgewebe	200	Keine Vergiftungserscheinungen. Am Tag nach der Einspritzung weist das Blut einen Streifen im Rotorange des Spektrums zwischen 45 und 50 der Skala auf, nach etwa 10 Tagen ist das Blut frei von dieser Absorptionserscheinung. Tod am 17. Tag infolge eines Abszesses.
				"	2200	"	200	Keine Vergiftungserscheinungen. Am 3. Tag nach der Einspritzung weist das Blut einen Streifen im Rotorange des Spektrums zwischen 46 und 49 der Skala auf. Absorptionsstreifen bis zu dem am 7. Tag erfolgten Tod des Tieres an Kaninchenseuche beobachtet.
				"	3600	"	400	Keine Vergiftungserscheinungen. Am 2. und 3. Tag nach der Einspritzung läßt das Blut in gleicher Lage im Spektrum eine streifenartige Absorption nur undeutlich erkennen. Die sichere Feststellung gelang nicht.
				"	2060	"	200	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
Berlin Drogengeschäft, Probe D	+	0,9237	7,79	Hund	10000	Dickdarm	300	desgl.
				Meerschweinchen	260	Bauchhöhle	10	"
				"	400	"	20	"
				Kaninchen	2150	Unterhautzellgewebe	200	Keine Vergiftungserscheinungen. Am Tag nach der Einspritzung schwacher Absorptionsstreifen im Rotorange zwischen 45 und 50. Nach 2 Tagen ist der Streifen deutlich zu erkennen (Konzentration des Blutes 1 : 10, Schichtdicke 14,5 mm), desgl. nach 5 Tagen. Das Tier muß wegen Kaninchenseuche getötet werden.
				"	1860	"	200	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
				"	2750	"	300	Beobachtungsdauer: 8 Tage. Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
Berlin Apotheke, Probe E	+	0,9231	6,82	Hund	8500	Dickdarm	300	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
				Meerschweinchen	160	Bauchhöhle	10	desgl.
				Kaninchen	2800	Unterhautzellgewebe	200	Beobachtungsdauer: 13 Tage. Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
Großdrogenhandlung Dresden „Oleum Sesami gallicum superfein", Probe F	+ (schwach)	0,9214	3,53	Hund	8500	Dickdarm	300	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal
				"	360	Bauchhöhle	12,5	desgl.
				"	1860	Unterhautzellgewebe	200	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal. Tier nach 2 Tagen getötet.

Bezugsquelle und Bezeichnung der Ölprobe	Eigenschaften der Ölprobe: Furfurolreaktion	Spez. Gew.	Säuregrad	Tier: Art	Körpergewicht g	Ort der Einverleibung	Menge des eingeführten Öls ccm	Verhalten des Tieres insbesondere spektroskopischer Blutbefund
Großdrogenhandlung Hannover „Oleum Sesami gallicum Ia“ Probe G	+	0,9228	5,51	Hund	11000	Dickdarm	300	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
				Meerschweinchen	220	Bauchhöhle	12,5	desgl.
				„	330	„	12,5	Tier war schon 14 Tage vorher mit Probe A behandelt. Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund während des Lebens normal. Das Blut des Tieres, das 14 Tage nach der Einspritzung † aufgefunden wird (Peritonitis mit fibrinösen Verklebungen), weist im Rotorange den beschriebenen Streifen auf.
				„	360	„	20	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal.
				Kaninchen	1680	Unterhautzellgewebe	200	Keine Vergiftungserscheinungen, Blutbefund normal. Tier wird nach 9 Tagen wegen Abszesses an der Einstichstelle getötet.

Zusammenstellung 12.

Prüfung einiger Sesamölproben auf Methämoglobinbildung im Versuch am Hund unter verschiedenen Versuchsbedingungen vom Mastdarm aus. (Verglichen mit der Nitritwirkung.)

Körpergewicht kg	Es werden zum Einlauf verwendet:	Verhalten des Tieres, spektraler Blutbefund
	I. Sesamöl + Wismutsubnitrat:	
7,5	200 ccm Sesamöl (Säuregrad: 45,63) + 25 g Wismutsubnitrat.	5 Stunden unter Verband. Blut, in Zwischenräumen von 1 Stunde untersucht, zeigt innerhalb 5 Stunden normalen spektroskopischen Befund.
11	180 ccm Sesamöl (Säuregrad; 11,87) + 30 g Wismutsubnitrat	3 Stunden unter Verband. Blut, nach 15 Minuten und am folgenden Tag untersucht, normal.
	II. Faulendes Fleisch + Wismutsubnitrat + Sesamöl:	
11	Gemisch aus 10 g gehacktem Rindfleisch, 10 g Wismutsubnitrat, 1 g Natriumcarbonat, 20 ccm Wasser und 300 ccm Sesamöl wird 8 Tage lang im Brutschrank faulen gelassen, durchgeseiht und zum Einlauf verwendet.	$5\frac{1}{2}$ Stunde unter Verband. Blut normal.
8	Gemisch aus 50 g Fleisch, 70 ccm Wasser, 20 g Wismutsubnitrat wird 14 Tage lang im Brutschrank faulen gelassen.	$4\frac{1}{2}$ Stunden unter Verband. Hund erbricht nach $\frac{1}{4}$ Stunde. Blut normal.
10	desgl.	$4\frac{3}{4}$ Stunden unter Verband. Blut normal.

Körpergewicht kg	Es werden zum Einlauf verwendet:	Verhalten des Tieres, spektraler Blutbefund
8	Gemisch aus 50 g Fleisch, 70 ccm Wasser, 20 g Wismutsubnitrat, 200 ccm Sesamöl wird 14 Tage lang im Brutschrank faulen gelassen.	6½ Stunden unter Verband. Blut normal.
7,5	desgl.	5¾ Stunden unter Verband. Blut normal.
	III. Natriumnitrit + Salzsäure.	
9	5 g Natriumnitrit (2,5 g NO_2) in 25 ccm Wasser werden mit 10,6 g 25%iger Salzsäure in 75 ccm Wasser gemischt und sofort zum Einlauf verwendet.	Hund unruhig, preßt beim Anlegen des Verbands einen Teil des Darmeinlaufs wieder heraus. Hund wird matt, legt sich auf die Seite, erbricht, wimmert. Allmähliche Lähmung. Geringer Speichelfluß. † nach 45 Minuten. Sektion: Herz prall gefüllt, Blut tiefdunkelbraun, Methämoglobinstreifen; auf Zusatz von Ammoniak Bildung von alkalischem Methämoglobin.
7	3 g Natriumnitrit in 25 ccm Wasser, 6,5 ccm 25%ige Salzsäure in 75 ccm Wasser werden nacheinander in den Mastdarm eingeführt.	Beim Anlegen des Verbands Kotentleerung. Hund erbricht, wird sehr bald matt und schlaff. Zähneknirschen, geringer Trismus. Mäßiger Speichelfluß. Wimmern, Dyspnoe. Beschleunigte Atmung. Atmung wird schwächer. † nach 30 Minuten. Sektion: Blutbefund wie oben.
8,5	0,5 g Natriumnitrit in 25 ccm Wasser, 1,5 ccm 25%ige Salzsäure in 75 ccm Wasser werden nacheinander in den Mastdarm eingeführt.	Verband. Zunächst keine Erscheinungen. Nach 1 Stunde Erbrechen. Hund matt. Verband nach 3 Stunden abgenommen. Beschleunigte, oberflächliche Atmung. Weißer Schaum vorm Maul. Nach 3 Stunden Blut entnommen: Schokoladenbraun. Methämoglobinstreifen. Am nächsten Morgen (13 Stunden) zweite Blutentnahme: Spektrum normal. Hund noch etwas matt, frißt aber. Tier erholt sich vollständig.

Zusammenstellung 13. Physikalische und chemische Konstanten der untersuchten gehärteten pflanzlichen Öle und einiger Speisefette[1]).

Bezeichnung der Fette	Schmelzpunkt	Erstarrungspunkt	Säuregrad	Verseifungszahl	Jodzahl	Gehalt an Nickel (Ni)	Gehalt an Arsen (As)
	nach Polenske					mg in 1 kg Fett	
	I. Gehärtete pflanzliche Öle.						
Leinöl	59,4°	40,2°	0,55	191	60,8	nicht wägbare Spuren	0,15
Erdnußöl	44,9°	30,4°	1,4	195	54,2	1,8	0,076
Sesamöl	48,0° ganz klar schmelzend bei 51—52°	32,6°	—	—	—	—	—

[1]) Nach Rieß a. a. O.

Bezeichnung der Fette	Schmelzpunkt	Erstarrungspunkt	Säuregrad	Verseifungszahl	Jodzahl	Gehalt an Nickel (Ni)	Gehalt an Arsen (As)
	nach Polenske					mg in 1 kg Fett	
Baumwollsamenöl (Brebesol)	42,7°	28,95°	0,57	196,5	56,6	nicht wägbare Spuren	—
Baumwollsamenöl	43,2°	28,9°	0,67	196,5	57,55	„	0,075
dasselbe ungehärtet	—	—	0,5	198,1	105,1	—	—

Die für die nachstehenden vergleichsweise untersuchten Speisefette angegebenen Konstanten sind ebenfalls von Rieß[1]) ermittelt; die eingeklammerten Werte entstammen der Fachliteratur[2]).

Bezeichnung der Fette	Schmelzpunkt	Erstarrungspunkt	Säuregrad	Verseifungszahl	Jodzahl	Nickel (Ni)	Arsen (As)
Gänsefett	39,4° (32—38°)	20,7° (17—22°)	—	(184—198)	(59—81)	—	—
Butter	(30—41°)	(19—26°)	—	(219—233)	(26—46)	—	—
Schweineschmalz	42,6° (41—51°)	22,3° (22—31°)	—	(193—198)	(46—77)	—	—
Rindertalg	50° (43—51°)	35,5° (30—38°)	—	(193—198)	(32—46)	—	—
Hammeltalg	48,4° (48—52°)	34,2° (34—38°)	—	(192—198)	(35—46)	—	—

(Fortsetzung des Textes von Seite 195.)

ist, daß das angewandte Sesamöl einen hohen Säuregrad aufwies oder im kranken Darm beträchtliche Säuremengen vorhanden waren.

Soviel geht aber auch aus den angestellten Versuchen (Zusammenstellungen 10—12) hervor, daß das Sesamöl des Handels sowohl für Genußzwecke als auch als Arzneimittel als ein geeignetes Öl weiterhin angesehen werden darf. Es lag kein Anlaß vor, vor der uneingeschränkten Benützung des Sesamöls, wie es Rautenberg getan hat, zu warnen, insbesondere da die Erkrankungen hinsichtlich ihrer Ursache nicht als aufgeklärt gelten können und Sesamöl sich als Speisefett in der ganzen Welt bewährt hat.

Zusammenfassung.

1. Bei den angestellten Versuchen und Beobachtungen am Menschen haben die untersuchten vier gehärteten pflanzlichen Öle (Leinöl, Baumwollsamenöl, Erdnußöl, Sesamöl) in ihrem Verhalten zum Organismus keinen Unterschied gegenüber den Fetten im nichtgehärteten Zustand gezeigt. Durch die bei dem Prozeß der Härtung erfolgende Erhöhung des Schmelzpunktes, Veränderung der Konsistenz und Verschiebung des Verhältnisses der gesättigten Säuren, insbesondere der Stearinsäure zu den übrigen Fettsäuren der Glyceride nehmen die untersuchten pflanzlichen Öle keine Eigenschaften an, die auf Grund der Versuche als hygienisch bedenklich bezeichnet werden müßten.

[1]) Nach Rieß a. a. O.

[2]) Entwurf zu Festsetzungen über Lebensmittel. Heft 2: Speisefette und Speiseöle, herausgegeben vom Reichsgesundheitsamt, 1912.

2. Die Versuche haben auch keinen Anhaltspunkt dafür ergeben, daß bei der Härtung aus den Bestandteilen der Öle etwa bisher noch nicht ermittelte Verbindungen entstehen, denen auf den Organismus ungünstige Wirkungen zugeschrieben werden müßten.

3. Die in den untersuchten gehärteten pflanzlichen Ölen zum Teil vorhandenen sehr geringen Mengen Nickel und die vereinzelt beobachteten Spuren von Arsen können nach dem Stande der ärztlichen Wissenschaft selbst bei wiederholter, jahrelang fortgesetzter Aufnahme als unbedenklich angesehen werden.

4. Sofern die genannten gehärteten pflanzlichen Öle aus einwandfreiem Rohmaterial stammen und die gehärteten Produkte praktisch frei von Nickel und Arsen sind, ist gegen ihre Verwendung in der Speisefettindustrie vom gesundheitlichen Standpunkt aus eine Erinnerung nicht zu erheben. Diese Beurteilung wird sich auf alle pflanzlichen Öle übertragen lassen, sofern die Ausgangsmaterialien gesundheitsunschädlich sind. Die weiteren Fragen, ob auch gehärtete tierische Öle (Waltran, Fischöle) als Speisefett verwendbar sind und ob es möglich ist, selbst an und für sich gesundheitsbedenkliche Öle durch eine entsprechende Härtung genießbar zu machen, lassen sich nur auf Grund entsprechender Untersuchungen beantworten. Eine Abhandlung über gehärtete tierische Öle wird folgen.

5. Dem Sesamöl in ungehärtetem Zustand kommen andre als die physiologischen Fettwirkungen nicht zu.

Berlin, April 1919 (abgeschlossen Mai 1915).

Ende des 1. Heftes.
Abgeschlossen am 29. April 1920.

ARBEITEN

AUS DEM

REICHSGESUNDHEITSAMTE

(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes)

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND

ZWEITES HEFT

BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1920

(Ausgegeben im Juli 1920)

Inhalts-Verzeichnis

Fortsetzung auf Seite 2.

Über das Chlorbindungsvermögen von Wasser und Abwasser.

Von

Dr. Victor Froboese,

wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Man hat freies Chlor auf Wasser bisher hauptsächlich einwirken lassen, um seine desinfizierenden Eigenschaften auszunutzen. Die Erfahrungen, die man mit der Chlordesinfektion des Trinkwassers im Lauf der Zeit gemacht hat, sind sehr verschieden gewesen. Es lag dies zum Teil an den wechselnden Anforderungen, welche man an die Wirkung des Chlors im Wasser stellte, zum Teil an der Schwierigkeit, einen Überschuß des Chlors auf bequeme Weise wieder aus dem Trinkwasser herauszubringen, zum Teil aber auch daran, daß die verschiedenen Wässer eine ungleich große Menge von Chlor brauchten, damit der gewünschte Desinfektionseffekt auch wirklich eintrat. Dieselben Erfahrungen, die man bei der Anwendung des Ozons zur Keimfreimachung des Trinkwassers erlebte, haben sich bei der Chloranwendung wiederholt. Ohlmüller[1]) hat zuerst festgestellt, daß Ozon auf Bakterien, welche in Wasser aufgeschwemmt sind, in kräftiger Weise zerstörend nur dann wirkt, wenn das Wasser nicht zu stark mit lebloser organischer Substanz verunreinigt ist, da das Ozon zunächst diese oxydiert. Das gleiche konnte man bei der Verwendung von Chlor beobachten. Hieraus ergab sich der Schluß, daß man bei Wässern unbekannter chemischer Zusammensetzung immer mit einem erheblichen Ozon- und Chlorkalküberschuß arbeiten muß, um des Desinfektionseffektes sicher zu sein.

Der Gedanke lag daher nahe, das umgekehrte Verfahren einzuschlagen und aus der Menge des von einem Wasser gebundenen Chlors auf seinen Gehalt an organischen Substanzen zu schließen.

Versuche in dieser Richtung erschienen um so wünschenswerter, als die Methode der Bestimmung der organischen Substanzen mittels Kaliumpermanganat bekanntlich nur sehr Unvollkommenes leistet[2]). Es ist seit langem bekannt, daß das Kaliumpermanganat gewisse Stoffe so gut wie gar nicht angreift, so z. B. den Harnstoff, und man hat daher von je her betonen müssen, daß die Bestimmung der Oxydierbarkeit

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte VIII. Bd., S. 229.

[2]) Vergl. Flügge, Lehrbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden 1881, S. 247. — Tiemann und Preuße, Berichte der deutschen Chemischen Gesellschaft, 1879 12. II., S. 1906.

des Wassers mittels Kaliumpermanganat nur Werte ergibt, welche letzten Falls unter sich verglichen, aber nicht als absolute hingestellt werden können. Daß freies Chlor auf die im Wasser vorhandene organische Substanz anders wirkt, als Kaliumpermanganat, weiß man ebenfalls seit einiger Zeit.

Haïri[1]) konnte durch Versuche an Lösungen von weinsaurem Natrium, Harnstoff, Traubenzucker, Pepton und Asparagin, ferner an Leitungswasser, Flußwasser und Abwässern verschiedener Art nachweisen, daß Wässer von der gleichen Oxydierbarkeit ganz verschiedene Mengen Chlor bei der Desinfektion brauchen, d. h. daß die in ihnen vorhandenen organischen Substanzen nicht immer die gleichen Mengen von Chlor binden. Er hat daraus den Schluß gezogen, daß die Oxydierbarkeit kein Maßstab für die Substanzen ist, welche bei der Desinfektion von Trinkwasser mit Chlor hemmend wirken, und daß die Bestimmung der chlorbindenden Wirkung ein viel besseres Mittel für diesen Fall ist, als die Bestimmung der Oxydierbarkeit.

Wesenberg[2]) stellte das Chlorbindungsvermögen von Wässern fest, denen geringe Mengen menschlichen Kotes zugefügt worden waren.

Gelegentlich der Chlorierung des Newawassers, welche sich bei der Unzulänglichkeit der Filter für die Wasserversorgung von St. Petersburg als notwendig erwies, machten Elmanowitsch und Zaleski eingehende Studien über den Einfluß verschiedener Faktoren auf das Chlorbindungsvermögen der Wässer, von ihnen als „Chlorkapazität“ bezeichnet[3]). Sie fügten zunächst zu einer bestimmten Wassermenge eine genau gemessene Menge klarer Chlorkalklösung und ermittelten nach Ablauf bestimmter Zeiten die Menge des noch übrig gebliebenen freien Chlors durch Titration mit $^1/_{50}$ n-Natriumthiosulfatlösung. Da die Ergebnisse von der Reaktion des Wassers sich als stark abhängig erwiesen, arbeiteten sie stets mit Wasserproben, die durch Zugabe von klarem Kalkwasser alkalisch gemacht worden waren.

Ihre Arbeitsweise schildern sie, wie folgt:

In einen Halbliterkolben aus Jenaer Glas werden 100 ccm des zu untersuchenden Wassers gebracht und diesem 25 ccm klares gesättigtes Kalkwasser und 20 ccm einer klaren Chlorkalklösung, enthaltend etwa 0,5 mg freies Chlor im Kubikzentimeter zugefügt. Die Chlorkalklösung wird am besten so eingestellt, daß 20 ccm Chlorkalklösung 20 ccm $^1/_{50}$ n-Natriumthiosulfatlösung entsprechen. Der Kolben wurde dann auf dem Drahtnetz erhitzt, so daß die Flüssigkeit nach 5—5 $^1/_2$ Minuten zu sieden begann. Genau 15 Minuten nach Beginn des Erwärmens wurde der Kolben vom Netz genommen und sofort 2 ccm einer 10%igen Jodkaliumlösung hinzugefügt. Nach dem Abkühlen des Kolbeninhalts wurden 10 ccm verdünnter Salzsäure hinzugefügt und mit $^1/_{50}$ n-Natriumthiosulfatlösung in der üblichen Weise das ausgeschiedene Jod titriert.

---

[1]) Haïri, Über den Einfluß der organischen Substanzen auf die Desinfektion des Trinkwassers mit Chlor. Zeitschr. für Hygiene, 75. Bd., 1913, S. 40.

[2]) Wesenberg, Die Trinkwassersterilisation mit Chlorkalk im Felde. Hygien. Rundschau 1915, S. 273.

[3]) Elmanowitsch und Zaleski, Über die Bedeutung der Chlorkapazitätsbestimmungen bei der Qualitätsbewertung von Wasser. Zeitschrift für Hygiene 78. Bd., S. 461.

Um vergleichbare Werte zu erhalten, ist der Grad der Alkalität und das Maß der Erwärmung der Wasserprobe stets genau einzuhalten.

Nach den Verfassern geht die Größe der Chlorbindung und der Oxydierbarkeit in den untersuchten Wässern nur so lange einigermaßen parallel, als das Wasser keine Eiweißzerfallprodukte (z. B. Harn) enthält. Ist dies der Fall, dann steigt die Chlorbindung unverhältnismäßig viel höher als die Oxydierbarkeit durch Kaliumpermanganat. Im Gegensatz hierzu steigerten dem Wasser zugesetzte Kohlehydrate sehr stark die Oxydierbarkeit, aber nur wenig das Chlorbindungsvermögen. Im einzelnen wurden von den Verfassern nach dieser Richtung hin geprüft: Stärke, Rohrzucker, Seife, Pepton, Hühnereiweiß, Alkohol, Glyzerin, Ammoniumchlorid, Harnstoff, Harnsäure, Glykokoll, Alanin, Leucin, Tyrosin, Phenol und Anilin. Die Verfasser sind auf Grund ihrer Versuche der Meinung, daß bei Qualitätsbewertungen von Wässern die Bestimmungen der Oxydierbarkeit und des Chlorbindungsvermögens sich gegenseitig ergänzen und daher nebeneinander ausgeführt werden sollten.

Nikolai[1]) hat die Bestimmung des Chlorbindungsvermögens des Wassers benutzt, um den Gehalt des Meerwassers an organischen Substanzen, die Verunreinigung des Kriegshafens Pola durch Abwässer, festzustellen. Er arbeitete indessen nach einem abweichenden Verfahren, indem er eine bestimmte Menge einer alkalischen Lösung von Natriumhypochlorit vier Stunden lang bei Zimmertemperatur auf das Meerwasser einwirken ließ und das übrig gebliebene Chlor nach Zusatz von Salzsäure und Jodkalium mittels $^1/_{100}$ n-Natriumthiosulfatlösung titrierte. Ähnliche, mehrere Stunden dauernde Verfahren benutzten auch Guillaume und Vienne[2]) in der Arbeit: „Über die durch die Javellisierung hervorgerufenen Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung des Trinkwassers", und neuerdings noch Pecker[3]): „Die Chlorzahl des Wassers."

Da eine Nachprüfung des Verfahrens von Elmanowitsch und Zaleski, soweit mir bekannt, bisher nicht veröffentlicht worden ist, erschien sie angezeigt. Dabei sollte zugleich der Versuch gemacht werden, die Methode, wenn möglich, zu vereinfachen.

Zunächst wurde nach der von Elmanowitsch und Zaleski beschriebenen Methodik eine Reihe von Flußwasserproben untersucht und zum Vergleich ihre Oxydierbarkeit mit Kaliumpermanganat in alkalischer und saurer Lösung bestimmt. Statt des Ausdrucks „Chlorkapazität" ist der einfachere Ausdruck „Chlorzahl" im folgenden gewählt worden. Sie gibt also an: Milligramm gebundenes Chlor für einen Liter Wasser. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle I zusammengestellt. Außer 9 Spreewasserproben, die an verschiedenen Tagen geschöpft waren, gelangten 2 Weserwasserproben zur Untersuchung.

Was die Genauigkeit der Methode anbetrifft, so erhält man bei der Titration mit $^1/_{50}$ n-Thiosulfat bei Parallelversuchen Unterschiede von 0,1 ccm. Da 1 ccm

---

[1]) Nikolai, Zur Bestimmung der organischen Substanz im Meerwasser. Archiv für Hygiene 86. Bd., 1917, S. 338.

[2]) Journ. Pharm. et Chim. 12, 377, 1915.

[3]) Journ. Pharm. et Chim. 18, 134, 1918.

$^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$ = 0,709 mg Cl ist und 100 ccm Wasser angewendet werden, so ändert ein Unterschied von 0,1 ccm $^1/_{50}$ n-Thiosulfat bei Parallelversuchen die Chlorzahl um 0,7.

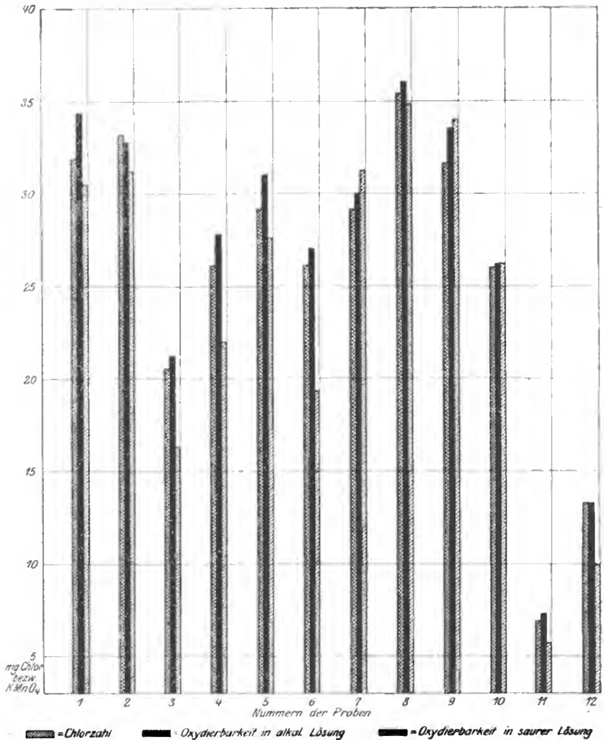


Fig. 1.

Zeichnet man die Ergebnisse graphisch auf (siehe Fig. 1), so ergibt sich, daß im allgemeinen die Werte für Chlorzahl und Oxydierbarkeit in gleichem Sinn verlaufen. Dieser Befund deckt sich also mit den Ergebnissen der Untersuchung von Elmanowitsch und Zaleski von verschiedenen Wasserproben. Man erkennt aber aus

Fig. 1, daß die einzelnen Wasserproben zuweilen durch die Chlorzahl viel stärker unterschieden werden, als durch die Oxydierbarkeit.

Es wurde nun versucht, die Methode zu vereinfachen, da die Herstellung einer klaren Chlorkalklösung und der gesättigten klaren Kalklösung umständlich ist. An Stelle der beiden Kalklösungen wurde eine alkalihaltige unterchlorigsaure Lösung des Kaliums verwendet, hergestellt durch Einleiten von Chlor in gekühlte etwa 50%ige Kalilauge.

Tabelle I.

Nr.	Art des Wassers	Zugegeben: 20 ccm Chlorkalklösung + 25 ccm Kalkwasser			Chlorzahl mg Cl pro Liter	Oxydierbarkeit	
		20 ccm Chlorkalklösung entsprechen ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$	verbraucht ccm $^1/_{50}$ $Na_2S_2O_3$	Differenz		in alkal. Lösung mg $KMnO_4$	in saurer Lösung mg $KMnO_4$
1	Spreewasser	22,6	18,3 18,35	4,3	30,5	34,4	31,9
2	Spreewasser	22,6	18,2 18,2 18,3	4,4	31,2	32,8	33,2
3	Spreewasser, 1 Monat gestanden, filtriert	17,9	15,6	2,3	16,3	21,2	20,5
4	Spreewasser	20,0	16,9	3,1	22,0	27,8	26,1
5	Spreewasser	19,8	15,9	3,9	27,6	31,0	29,1
6	Spreewasser, durch Asbest filtriert	19,6	16,9	2,7	19,3	27,0	26,1
7	Spreewasser	17,9	13,5	4,4	31,2	30,0	29,1
8	Spreewasser	22,9	18,0	4,9	34,8	36,0	35,4
9	Spreewasser	17,9	13,1	4,8	34,0	33,5	31,6
10	$^3/_4$ Teile Spreewasser + $^1/_4$ Teil Leitungswasser	17,9	14,2	3,7	26,2	26,2	26,0
11	Weserwasser	19,7	18,9	0,8	5,7	7,3	6,9
12	Weserwasser	19,7	18,3	1,4	9,9	13,3	13,3

Das wirksame Chlor dieser noch zu verdünnenden Lösung findet man jodometrisch, die Alkalität am besten durch Zugeben von 30%igem Wasserstoffsuperoxyd, Verdünnen und Titrieren mit $^1/_{10}$ n-Salzsäure unter Benutzung von Methylorange als Indikator. Man stellt dann die Lösung so ein, daß 20 ccm entsprechen: 20 ccm $^1/_{50}$ n-Natriumthiosulfatlösung und 20 ccm $^1/_{10}$ n-Salzsäure. Einfacher ist die Verwendung von Javellescher Lauge (C. A. F. Kahlbaum-Berlin), die man nach dem Absetzenlassen mittels einer $^1/_{10}$ n-Natronlauge leicht auf die gewünschte, der unterchlorigsauren Kalilösung entsprechende Stärke bringen kann. Auch eine Bromlösung wurde versuchsweise hergestellt, indem 50%ige Kalilauge mit Brom geschüttelt und dann ein Teil davon auf die obige Konzentration gebracht wurde, d. h. 20 ccm entsprechend etwa 20 ccm $^1/_{50}$ n-Natriumthiosulfat und 20 ccm $^1/_{10}$ n-Salzsäure.

In der Tabelle II sind zum Vergleich miteinander die Ergebnisse der Untersuchung einiger Flußwasserproben, geschöpft im Februar und März an verschiedenen Tagen, nach den einzelnen Verfahren zusammengestellt worden. Zum größten Teil wurden mit den verschiedenen Methoden die gleichen oder fast gleichen Zahlen erhalten. Nur die Bromzahlen sind, um sie vergleichen zu können, auf die entsprechenden Chlorzahlen umgerechnet, fast durchgängig etwas größer (1 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$ = 1,6 mg Br). Man erhält indessen mit Kaliumhypobromit ebenfalls unter sich stimmende Werte bei derselben Wasserprobe.

Es erschien möglich, daß die Schwankungen der Ergebnisse der Chlorbindungsversuche zum Teil durch einen teilweisen Zerfall der Hypochlorite beim Kochen zu erklären wären. Um darüber Klarheit zu gewinnen, wie groß der Zerfall überhaupt ist, wurden folgende Versuche angestellt.

Tabelle II.

Nr.	Art des Wassers	Chlorzahl			Bromzahl ohne Kaliumhypobromit	Die durch Kaliumhypobromit gefundene Bromzahl auf die Chlorzahl umgerechnet
		durch Chlorkalk + Kalkwasser	durch reine Kaliumhypochloritlösung	durch Javellesche Lauge		
1	Spreewasser	30,5	27,6	29,2	72,0	31,9
2	Spreewasser	30,5	28,4	29,8	75,2	33,3
3	Spreewasser	31,2	28,4	27,6	72,0	31,9
4	$^3/_4$ Teile Spreewasser + $^1/_4$ Teil Leitungswasser	26,2	26,5	26,2	60,8	26,2
5	Spreewasser	22,0	22,0	21,3	64,0	28,4
6	Spreewasser	27,6	28,0	27,7	73,5	32,6
7	Weserwasser	5,7	5,7	5,7	17,6	7,8
8	Weserwasser	9,9	8,5	9,9	33,6	14,9

100 ccm destilliertes Wasser wurden mit 20 ccm Chlorkalklösung (= 19,6 $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$) und 25 ccm Kalkwasser nach 15 Minuten Kochzeit und weiterem Behandeln nach Vorschrift titriert; verbraucht 19,0 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$. Zu einem zweiten ebenso beschickten und zur gleichen Zeit aufgesetzten Kolben wurden jedoch nach 15 Minuten Kochzeit noch 20 ccm Chlorkalklösung zugegeben, 15 Minuten weiter gekocht und dann titriert; verbraucht 38,5 ccm $Na_2S_2O_3$. Die Thiosulfatdifferenz beträgt also nach 15 Minuten 19,6 bis 19,0 = 0,6 ccm, und es kann angenommen werden, daß nach dieser Zeit alle Bestandteile des destillierten Wassers mit Chlor gesättigt worden sind. Es wurde nach weiteren 15 Minuten auch nur ein Verbrauch von (19,6 + 19,0) — 38,5 = 0,1 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$ festgestellt. Anders bei den Alkalihypochloriten: es wurden wiederum 2 Kolben mit je 100 ccm destilliertem Wasser und 20 ccm Javellescher Lauge (= 19,9 $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$) beschickt. Der eine wurde

nach 15 Minuten langem Erhitzen titriert, und es wurden verbraucht 18,8 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$. Also Differenz: 19,9—18,8 = 1,1 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$. Zum zweiten Kolben wurden noch 20 ccm Javellesche Lauge zugefügt, ohne Unterbrechung 15 Minuten weiter gekocht und dann durch Titration erhalten 37,2 ccm $Na_2S_2O_3$. Also war der Verbrauch in den zweiten 15 Minuten 18,8 + 19,9 — 37,2 ccm = 1,5 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$, die offenbar durch einen Zerfall des Natriumhypochlorits bedingt sind. Eine reine Lösung von Kaliumhypochlorit (20 ccm = 17,6 $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$), ebenso geprüft, ergab nach 15 Minuten langem Kochen 16,9 ccm; Differenz: 17,6 — 16,9 = 0,7 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$. Nach 30 Minuten wurden 33,7 ccm $Na_2S_2O_3$ verbraucht; Differenz: 17,6 + 16,9 — 33,7 = 0,8 ccm. Der Zerfall ist also hier weniger stark. Dasselbe gilt von der Bromlösung (20 ccm = 23,2 $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$). Kolben I nach 15 Minuten langem Kochen titriert, ergab einen Verbrauch von 22,6 ccm $Na_2S_2O_3$, Differenz: 23,2 — 22,6 = 0,6 ccm $Na_2S_2O_3$. Nach 30 Minuten langem Kochen wurden bei Kolben II 45 ccm verbraucht; Differenz: 22,6 + 23,2 — 45,0 = 0,8 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$.

Daß nach den zweiten 15 Minuten des Siedens bei vorheriger Zugabe weiterer 20 ccm Hypochlorits teils noch mehr Chlor verbraucht worden ist, als nach den ersten 15 Minuten des Kochens, zeigt, wie stark der Zerfall zunimmt, wenn sich die Hypochloritkonzentration erhöht, wie es während der zweiten 15 Minuten durch Fortkochen des Wassers und Zugabe weiterer 20 ccm Hypochloritlösung der Fall ist.

Um festzustellen, von welcher Verdünnung der Hypochloritlösung an die Thiosulfatwerte beim Vermindern der zugesetzten Hypochloritmenge gleich bleiben, wurden die in Tabelle III zusammengestellten Versuche gemacht.

Tabelle III.

Nr.	Art des Wassers	Menge der zugegebenen Javelleschen Lauge	Der zugegebenen Hypochloritlauge entsprechende Anzahl ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$	Verbrauchte ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$	Differenz
1	100 ccm dest. Wasser	20 ccm	19,4	18,8	0,6
2	100 „ „ „	10 „	9,7	9,4	0,3
3	100 „ „ „	5 „	4,85	4,55	0,3
4	100 „ filtr. Spreewasser	20 „	19,2	16,6	2,6
5	100 „ „ „	10 „	9,6	7,3	2,3
6	100 „ „ „	5 „	4,8	2,6	2,2

Man sieht daraus, daß bei Zusatz von 20 ccm Javellescher Lauge ein um 0,3 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$ höherer Wert erhalten wird, als bei Zusatz von nur 10 oder 5 ccm, welch letztere Zusätze keine Unterschiede mehr bedingen und wohl einen Thiosulfatwert liefern, der der eigentlichen Chloraufnahme am nächsten kommt. Als nun 500 ccm dest. Wasser mit je 0,3 + 0,1—0,4 ccm Javellescher Lauge pro 100 ccm (0,1 ccm als Überschuß) versetzt, 15 Minuten gekocht, gekühlt und titriert wurden, wurde 0,15 ccm $^1/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$ verbraucht. Weitere 100 ccm dieses so behandelten

Wassers wurden nun wie gewöhnlich mit 20 ccm (= 19,4 ccm $^{1}/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$) Javellescher Lauge versetzt, 15 Minuten gekocht, titriert und verbraucht 19,2 ccm $^{1}/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$. In diesen 100 ccm Wasser waren also vor dem Kochen an Javellescher Lauge, in Thiosulfat ausgedrückt, vorhanden 0,15 + 19,4 = 19,55 ccm und wiedergefunden wurden 19,2 ccm, also Differenz 0,35 ccm. Der Unterschied aus Tabelle III, Nr. 1 u. 2 letzte Spalte ist 0,6—0,3 = 0,3 ccm. Danach wird also bei Anwendung von 20 ccm Javellescher Lauge während der Kochzeit von 15 Minuten jedes Mal eine 0,3 ccm $^{1}/_{50}$ n-$Na_2S_2O_3$ entsprechende Chlormenge durch die Arbeitsweise zerstört; denn, chloriert waren alle Stoffe im Wasser, da ja noch ein Überschuß von Javellescher Lauge, 0,15 ccm Thiosulfat entsprechend, vorhanden war.

Bei reiner KClO-Lösung konnte auf dieselbe Weise festgestellt werden, daß bei Anwendung von 20, 10 oder 5 ccm eine stete Abnahme der Thiosulfatdifferenz um 0,2 ccm erfolgt, bei der Bromlösung sogar um 0,3.

Trotzdem diese Versuche eigentlich dazu anraten, bei reinem Wasser nur 10 ccm Hypochloritlösung anzuwenden und erst, wenn diese nicht mehr ausreichen, also bei stärker verschmutztem Wasser, 20 ccm zuzugeben, wird es sich doch aus praktischen Gründen empfehlen, bei einem Zusatz von 20 ccm zu bleiben. Der geringe Zerfall ist bei gleicher Arbeitsweise stets derselbe und deshalb für den Vergleich der Resultate ohne Einfluß. Die Javellesche Lauge von der schwachen Konzentration nimmt, in einer schwarzen Flasche vor Licht geschützt bei Zimmertemperatur aufbewahrt, an Wirkungswert nur sehr langsam ab.

In der folgenden Tabelle IV ist eine Reihe von Untersuchungen zusammengestellt worden, welche das Verhalten von Harnstoff — destilliertem und Flußwasser zugesetzt —, von Glykokoll, ferner von Stärke, Zucker, Pepton und Sulfitzellstoffablauge dem Chlor und Brom gegenüber zeigen sollen. Zum Vergleich sind auch destilliertes Wasser und Flußwasser (Spreewasser) ohne Zusätze untersucht worden. Neben der Chlorzahl, gefunden durch Hypochlorite, ist auch die aus der Bromzahl durch Umrechnung erhaltene Chlorzahl zum Vergleich eingefügt, und es ist außerdem die Oxydierbarkeit in alkalischer und saurer Lösung durch Kaliumpermanganat mit aufgenommen worden. Unter Nr. 2—7 finden sich die Ergebnisse der Untersuchung von destilliertem Wasser, dem pro Liter 1—10 ccm einer 0,1 %igen und 1 ccm einer 10%igen Harnstofflösung beigefügt war, unter Nr. 8—11 sind einige der Harnstoffversuche mit Spreewasser wiederholt, unter Nr. 12—17 sind die Versuche unter Zusatz von Glykokoll, Kohlehydraten und Pepton aufgezeichnet. Beim Zusatz nur geringer Harnstoffmengen zum destillierten und Flußwasser erhält man nach den verschiedenen Verfahren leidlich übereinstimmende Werte, bei höherem Harnstoffgehalt (vergl. Nr. 7 und 11) ergeben sich aber größere Differenzen. Die Endreaktion beim Titrieren (Verschwinden der Jodstärke) ist nicht scharf, da, vielleicht durch die entstandene Chlor-Harnstoff-Verbindung, neues Jod frei wird. Man wird also darauf zu achten haben, daß die Bestimmung des Chlorbindungsvermögens stets bei genügender Verdünnung des mit Harnstoff verunreinigten Wassers stattfindet. Daß Harnstoff durch Kaliumpermanganat fast gar nicht angegriffen wird, ist bekannt. Daher die verhältnismäßig niedrigen Werte für die Oxydierbarkeit unter Nr. 2—7. Das gleiche gilt für

Tabelle IV.

Nr.	Art des Wassers	Chlorzahl durch Chlorkalk	Chlorzahl durch Kaliumhypochloritlösung	Chlorzahl durch Javellesche Lauge	Bromzahl mg Br. pro Liter	Die Bromzahl auf die Chlorzahl umgerechnet mg Cl pro Liter	mg $KMnO_4$ pro Liter Oxydierbarkeit in alkal. Lösung	mg $KMnO_4$ pro Liter Oxydierbarkeit in saurer Lösung
1	Dest. Wasser ohne Zusatz . .	3,5	3,5	4,3	11,2	5,0	1,36	1,24
2	Dest. Wasser + 1 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter . .	7,1	7,8	8,5	25,6	11,4	1,4	1,3
3	Dest. Wasser + 3 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter . .	12,1	14,9	15,6	35,2	15,6	2,5	2,2
4	Dest. Wasser + 5 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter . .	16,3	18,4	19,1	46,5	20,6	1,3	1,0
5	Dest. Wasser + 7 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter . .	22,0	22,7	22,7	64,0	28,4	2,5	2,2
6	Dest. Wasser + 10 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter . .	31,2	24,8	25,5	91,2	40,4	1,1	1,0
7	Dest. Wasser + 1 ccm 10 %iger Harnstofflösung pro Liter . .	129,0	115,0	102,9	272,0	120,5	1,9	1,9
8	Spreewasser ohne Zusatz . .	29,8	28,4	27,7	72,0	31,9	33,2	32,8
9	Spreewasser Nr. 8 + 1 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter. Verdünnung 1 : 1 Million	33,4	31,2	32,6	80,0	35,4	33,0	32,7
10	Spreewasser Nr. 8 + 5 ccm 0,1 %iger Harnstofflösung pro Liter. Verdünnung 1 : 200000	40,5	39,8	43,3	112,0	49,6	33,4	32,8
11	Spreewasser Nr. 8 + 1 ccm 1 %iger Harnstofflösung pro Liter. Verdünnung 1 : 100000	51,8	41,9	46,1	141,0	62,5	32,5	32,4
12	Dest. Wasser + 5 ccm 1 %iger Glykokolllösung pro Liter . .	133,3	119,1	123,5	243,0	108,0	33,0	1,26
13	Spreewasser + 1 ccm löslicher Stärkelösung pro Liter . . .	39,0	36,9	37,6	105,7	46,8	38,2	40,0
14	Spreewasser + 1 ccm ca. 30 %iger Zuckerlösung pro Liter . .	80,2	85,9	83,0	323,0	143,2	⟨180,0	⟨180,0
15	2 Liter dest Wasser + 1 ccm ca. 1 % iger Peptonlösung (Witte)	20,6	24,1	19,9	40,0	17,7	8,9	6,3
16	2 Liter dest. Wasser + 3 ccm 1 %iger Peptonlösung (Witte)	49,6	51,1	46,8	107,1	47,5	18,6	18,0
17	Spreewasser + 1 ccm Sulfitablauge pro Liter	135,5	130,5	127,7	326,1	144,7	⟨160,0	⟨160,0

Aminosäuren (z. B. Glykokoll unter Nr. 12). Auch Peptonzusatz (vergleiche Nr. 15 und 16) erhöht die Oxydierbarkeit nicht besonders (auch nicht die Chlorzahl). Dagegen läßt, wie zu erwarten war, der Zusatz von Zucker und Sulfitablauge die Oxydierbarkeitswerte mächtig in die Höhe schnellen. Dafür ist die Chlorbindung bei Harnstoff und Glykokoll beträchtlich. Beide Bestimmungen ergänzen also einander, wie die früheren Autoren zum Teil schon richtig bemerkt haben.

Interessant ist noch der Vergleich der aus der Bromzahl berechneten Chlorzahl mit der durch Hypochlorite gefundenen. Erstere ist fast überall größer, als letztere; es hat also eine entsprechend größere Brombindung stattgefunden. Dies trifft jedoch

nicht zu für Nr. 12, Glykokoll und Nr. 15, Pepton, teilweise auch nicht für Nr. 16, Pepton. Hier war also das Chlorbindungsvermögen größer als die Bromaddition.

Schließlich wurde noch eine Anzahl von Versuchen ausgeführt, bei welchen Spreewasser mit frisch geschöpftem, durch ein Filter von gröberen Schwebestoffen befreitem Berliner Kanalwasser aus der Städtischen Pumpstation verwendet wurde. Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle V wiedergegeben. Außer den bisher schon zum Vergleich herangezogenen Methoden wurde bei diesen Proben auch noch die Bestimmung der Sauerstoffzehrung bei 48 stündiger Aufbewahrung des Wassers bei Zimmertemperatur hinzugenommen.

Das Ergebnis der Untersuchungen war folgendes. Die Schwebestoffe des Spreewassers beeinflußten das Chlorbindungsvermögen und die Oxydierbarkeit. Beide waren in dem Wasser mit Schwebestoffen größer, als in dem Wasser ohne Schwebestoffe. Ein wesentlicher Unterschied in den Ergebnissen je nach Wahl der Methode (Chlorkalk oder Javellesche Lauge; Kaliumpermanganat in alkalischer oder saurer Löeung) war bei diesen Proben (1, 1 a, 1 b) nicht zu erkennen. Sehr groß war der Unterschied

Tabelle V.

Nr.	Art des Wassers	Chlorzahl			Bromzahl	Die Bromzahl auf die Chlorzahl umgerechnet	Oxydierbarkeit		Sauerstoffzehrung		
		durch Chlorkalklösung	durch Kaliumhypochloritlösung	durch Javellesche Lösung	mg Br. pro Liter		in alkal. Lösung	in saurer Lösung	O_2 ccm/l bei Mischung	O_2 ccm/l nach 48 Std.	Differenz O_2 ccm/l
1	Spreewasser . . .	30,5	27,7	29,1	72,0	31,9	27,8	26,1	—	—	—
1 a	Spreewasser, trübe durch viele organ. Schwebestoffe . .	27,0	—	26,3	80,0	36,4	32,2	31,6	6,22	5,18	1,04
1 b	Spreewass. 1 a durch Asbest filtriert . .	21,3	—	22,0	65,6	29,1	27,2	25,9	5,35	5,07	0,28
2	Spreewass. + 0,5 ccm filtriertes, opaleszierendes Abwass. pro Liter . . .	31,2	27,7	29,1	72,0	31,9	27,5	25,6	—	—	—
3	Spreewasser + 0,75 ccm filtriertes Abwasser pro Liter	31,9	29,1	29,8	74,5	32,6	28,1	27,2	6,16	5,72	0,44
4	Spreewasser + 1 ccm filtriert. Abwasser pro Liter . . .	32,6	29,1	29,8	75,2	33,3	27,5	26,8	6,18	5,61	0,57
5	Spreewass. + 1,5 ccm filtriert. Abwasser pro Liter . . .	33,4	29,1	31,9	74,5	32,6	27,2	26,8	6,06	5,46	0,6
6	Spreewasser + 2 ccm Abwasser pro Liter	32,6	29,1	33,4	72,0	31,9	27,5	27,0	—	—	—
7	Spreewasser + 3 ccm Abwasser pro Liter	33,4	29,8	34,1	74,5	32,6	28,4	27,8	6,28	4,79	1,44

in der Sauerstoffzehrung. Fügt man dem Spreewasser filtriertes Abwasser zu, so steigt mit wachsendem Abwassergehalt das Chlorbindungsvermögen (besonders nach der Methode mit der Javelleschen Lauge) und die Sauerstoffzehrung, dagegen kann man aus den Werten für die Oxydierbarkeit noch keine kontinuierliche Erhöhung des Permanganatverbrauchs erkennen.

Fig. 2 zeigt noch eine graphische Auftragung der Chlorzahlen und der Werte für die Oxydierbarkeit in alkalischer und saurer Lösung von Berliner Leitungswasser, welches fast täglich vom 5. April bis 12. Juni 1919 untersucht wurde.

Das Verfahren zur Bestimmung der Chlorzahl in Wässern ist im folgenden nochmals kurz zusammengestellt:

100 ccm Wasser werden im Jenaer Erlenmeyerkolben mit 20 ccm Javellescher Lauge, die 20 ccm $^1/_{50}$ n-Thiosulfat und 20 ccm $^1/_{10}$ n-Salzsäure entsprechen, versetzt. Der Kolben wird darauf auf einem Drahtnetz mit Asbesteinlage erhitzt, wobei die Flüssigkeit nach 5—5$^1/_2$ Minuten

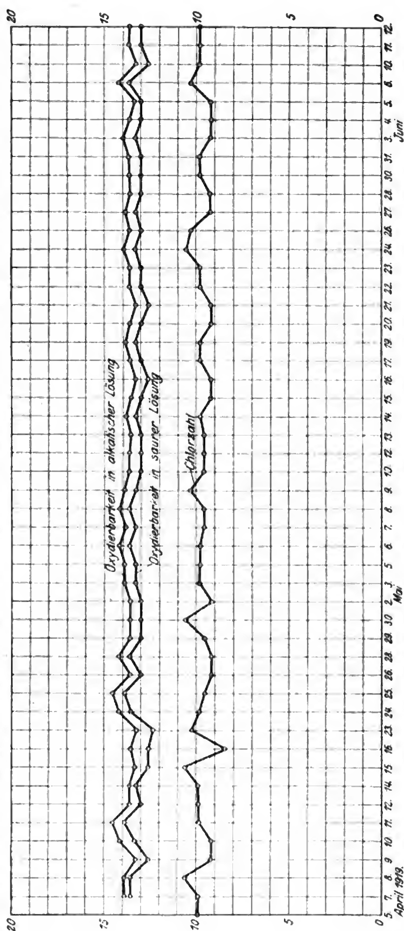


Fig. 2.

zu sieden beginnen muß. Genau 15 Minuten nach Beginn des Erwärmens wird der Kolben vom Netz genommen, sofort 2 ccm 10%ige Jodkaliumlösung zugefügt und der Kolben in schräger Stellung in kaltes Wasser gebracht. Nach völligem Abkühlen werden 10 ccm verdünnter Salzsäure (1 Vol. HCl vom spezifischen Gewicht 1,124 + 2 Vol. H_2O) zugefügt und es wird mit $^1/_{50}$ n-Thiosulfat und Stärke wie üblich titriert. Das Ergebnis wird auf 1 Liter Wasser umgerechnet. Ist a die Anzahl Kubikzentimeter $^1/_{50}$ n-Thiosulfat, die 20 ccm Javellescher Lauge entsprechen, und b die Anzahl Kubikzentimeter $^1/_{50}$ n-Thiosulfat, die zur Titration der gekochten Wasserprobe verbraucht worden sind, so berechnet sich die Chlorzahl des Wassers zu

$$(a-b) \cdot 0{,}709 \cdot 10 \text{ mg Cl pro Liter.}$$

Will man sich über das Chlorbindungsvermögen von Wässern nur zum Vergleich orientieren und besitzt im Laboratorium keine Javellesche Lauge, so kann man vorteilhaft die entsprechende Bromlösung herstellen und nach obiger Methode die Bromzahl erhalten. Die Bromzahl neben der Chlorzahl bei Wässern festzustellen, hat keinen praktischen Wert, und es bietet keinen Vorteil, noch etwas Neues wie die Bromzahl einzuführen, da beide Zahlen größtenteils gleichsinnig miteinander schwanken. Benutzt man die Hypobromitlauge und berechnet die verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfat auf Chlor, so erhält man ein wenig höhere Werte als bei Anwendung von Javellescher Lauge.

Zusammenfassung.

1. Die Bestimmung des Chlorbindungsvermögens hat sich auch nach den vorangegangenen Untersuchungen für die Beurteilung von Wässern als brauchbar erwiesen.

2. Es wurde eine Verbesserung der Methode eingeführt dadurch, daß Chlorkalklösung und Kalkwasser durch alkalihaltige, verdünnte Javellesche Lauge ersetzt wurden.

3. Reine Hypochloritlaugen und Hypobromitlaugen lassen sich ebenfalls verwenden, sie bieten jedoch gegenüber der Javelleschen Lauge keinen Vorteil, und es erscheint überflüssig, neben der Chlorzahl noch eine Bromzahl einzuführen.

4. Es wird empfohlen, bei Wasseranalysen überall da, wo die Oxydierbarkeit festgestellt wird, auch die Bestimmung der Chlorzahl vorzunehmen, weil beide Bestimmungen sich ergänzen und durch die Chlorzahl selbst gering verschmutzte Wässer besser und sicherer gekennzeichnet werden, als durch den Permanganatverbrauch. Dieser zeigt im Gegensatz zur Chlorzahl die Gegenwart geringer Mengen von Eiweißabbauprodukten nicht an.

5. Um in der Literatur Verwechselungen zu verhüten, wird vorgeschlagen, den Wert für das Chlorbindungsvermögen eines Wassers „Chlorzahl" (d. i. mg Cl pro Liter), den Wert für den Chloridgehalt aber nur noch „Chloridzahl" zu nennen.

Herrn Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Spitta bin ich für die Anregung zu dieser Arbeit zu Dank verpflichtet.

Aus dem Hygienischen Laboratorium des Reichsgesundheitsamtes. Juni 1919.

Zur Kenntnis der Fleischextrakte und einiger Ersatzstoffe, insbesondere Beiträge zum Nachweis der in den vorstehenden Erzeugnissen vorkommenden Stickstoffverbindungen.

Von

Geh. Regierungsrat **Dr. Karl Beck**, Mitglied und **Dr. Ernst Merres**, wissenschaftlichem Hilfsarbeiter

im Reichsgesundheitsamte.

Einleitung.

Die vorliegenden Untersuchungen über Fleischextrakte und ähnliche Erzeugnisse waren bei Kriegsausbruch abgebrochen worden. Da sie bezüglich der Nachprüfung der unten aufgezählten Untersuchungsverfahren und der damit erhaltenen Ergebnisse in dem beabsichtigten Rahmen als abgeschlossen angesehen werden können und eine weitere Ausdehnung der Versuche besonders über Fleischextrakte gegenwärtig durch den Mangel an Untersuchungsmaterial in Frage gestellt wird, erfolgt ihre Veröffentlichung in der Absicht, die bisher auf diesem Forschungsgebiet erhaltenen Ergebnisse (1)[1]) zu ergänzen.

I. Die Untersuchungsverfahren.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf die Feststellung des Gesamt-Stickstoffs, des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs, des Ammoniak-, Aminosäuren-, Kreatinin- und Kreatin-Stickstoffs im ursprünglichen Extrakt sowie auf die Veränderungen, die bezüglich der obigen Stickstoffverbindungen durch eine Hydrolyse der Extrakte hervorgerufen werden. Zur weiteren Kennzeichnung der untersuchten Proben wurde ferner der Aschen-, Chlor- und Wassergehalt ermittelt.

Zwecks Vornahme der Untersuchung wurden 50 g Extrakt in Wasser gelöst und auf ein Volumen von 500 ccm gebracht. Von dieser Lösung wurden zur Analyse die den erforderlichen Einwagen entsprechenden Mengen genommen.

Die Bestimmung des Wassers.

10 ccm Extraktlösung wurden in einer mit Sand beschickten Schale auf dem Wasserbade eingedampft und dann bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das letztere kann auf zwei Wegen ausgeführt werden. Man kann den Rückstand entweder bei

[1]) Die Literatur ist am Schluß der Arbeit zusammengestellt.

105° im Trockenschrank erhitzen oder nach dem von Fiehe und Stegmüller (2) für Honig ausgearbeiteten Verfahren im luftverdünnten Raum bei 70° trocknen.

Nach diesen beiden Verfahren wurde in Liebigs Fleischextrakt folgender Wassergehalt ermittelt.

Bei 105° getrocknet	Im Vakuumexsikkator bei 70° getrocknet
18,21 % Wasser	18,25 % Wasser
18,39 „ „	18,37 „ „
18,28 „ „	18,29 „ „

Hiernach führen die beiden Verfahren zu übereinstimmenden Ergebnissen.

Die Bestimmung der Asche und des Chlors.

Die Extraktlösung, im vorliegenden Falle 20 ccm (entsprechend 2 g Extrakt), wurde in einer flachen Platinschale eingedampft und der Rückstand zunächst mit kleiner Flamme verkohlt. Alsdann wurde die Kohle ein bis zwei Mal mit Wasser ausgezogen, der kohlige unlösliche Rückstand zunächst getrennt verascht, darauf mit der vorher erhaltenen Lauge vereinigt und nach Verdampfen des Wassers geglüht. Die so erhaltene Asche kann zugleich zur Bestimmung des Chlorgehalts benutzt werden. Hierbei wurde die Frage geprüft, ob die gravimetrische oder titrimetrische Bestimmung des Chlorgehalts den Vorzug verdiene. Nach Micko (3) stehen dem titrimetrischen Verfahren mittels Silberlösung und Kaliumchromat als Indikator bei Gegenwart von Phosphaten Bedenken entgegen, während nach Beckurts (4) eine Störung durch die Phosphate nicht stattfindet. Vergleichende, an Liebig's Fleischextrakt ausgeführte Versuche führten zu dem folgenden Ergebnis.

Gravimetrisch	Titrimetrisch
3,01 % Na Cl (aus Cl berechnet)	2,98 % NaCl (aus Cl berechnet)
3,02 „ „	3,01 „ „
3,00 „ „	2,98 » „

Da hiernach ein Unterschied in den Ergebnissen nicht festgestellt werden konnte, wurde bei den folgenden Versuchen das handlichere titrimetrische Verfahren angewandt.

Die Bestimmung der Stickstoffarten.

Die Ermittlung des Gesamt-Stickstoffs geschah nach Kjeldahl; die Fällung mit Phosphorwolframsäure nach Baur und Barschall (5). Für die Ammoniakbestimmung kamen zwei Verfahren in Betracht: 1. Die Destillation unter Zusatz von Magnesiumoxyd, 2. Das Verfahren von Folin (6), wonach das Ammoniak auf Zusatz von Barytlauge durch einen lebhaften Luftstrom bei Zimmertemperatur abgesaugt wird. Das letztere bisher wenig geübte Verfahren ist von Grünhut (7) für die Untersuchung

von Suppenwürzen und ähnlichen Erzeugnissen in der Form empfohlen worden, daß ein lebhafter Luftstrom durch die auf 25° erwärmte Lösung 3 Stunden lang geleitet und das abgesaugte Ammoniak in einer mit $^1/_{10}$ Normal-Schwefelsäure beschickten Vorlage absorbiert wird. Die Nachprüfung der beiden Verfahren wurde an Lösungen von Chlorammonium und an Extraktlösungen vorgenommen. Es ergab sich hierbei, daß in den angewandten Chlorammoniumlösungen unter den von Grünhut vorgeschriebenen Bedingungen der Ammoniakgehalt mit genügender Genauigkeit ermittelt werden konnte, wenn die Menge des Ammoniakstickstoffs nicht mehr als etwa zwölf Milligramm betrug. Für das Absaugen von größeren Mengen ist jedoch entweder ein erheblich längeres Durchleiten des Luftstromes erforderlich, oder es muß die Temperatur während des Versuchs auf mindestens 40° erhöht werden, wie die folgenden Versuche zeigen.

Bestimmung des Ammoniaks in Chlorammoniumlösungen.

Angew. Menge Ammonium-chlorid mg	Temp. Grad	Dauer des Luftstroms Std.	Geschwindigkeit des Luftstroms	Ammoniak-Befund nach Folin-Grünhut mg	Ammoniak-Sollwert mg	Ammoniak-Befund bei Abdestill. unter Zusatz von MgO mg	Ammoniak-Differenz zwischen Befund u. Sollwert nach Folin-Grünhut mg	Bemerkungen
50	25	3	mäßig	8,4		12,9	4,7	
50	25	3	„	9,5	13,1	12,9	3,6	
50	25	3	sehr lebhaft	12,8		12,9	0,3	
50	25	3	„	12,9		12,9	0,2	
100	25	3	mäßig	7,3		25,8	18,9	
100	25	3	„	7,7		25,8	18,5	
100	25	3	sehr lebhaft	18,2		25,8	8,0	4,6 Zunahme nach weiterem zweistünd.
100	25	3	„	18,8		25,8	7,4	4,6 Durchleiten
100	40	3	„	25,1	26,2	25,8	1,1	15,2 Bestimmung des nicht ausgetriebenen NH_3
100	40	3	„	25,2		25,8	1,0	16,0 durch Destillation
100	25	5	„	25,1		25,8	1,1	
100	25	5	„	25,5		25,8	0,7	
200	25	5	„	32,8		51,7	19,6	
200	25	5	„	34,0	52,4	51,7	18,4	
200	40	3	„	43,8		51,7	8,6	
200	40	3	„	43,0		51,7	9,4	

Während unter den obigen Einschränkungen die Ammoniakbestimmungen bei Anwendung der Chlorammoniumlösungen nach beiden Verfahren zu gleichen Ergebnissen führten, war die Übereinstimmung bei der Ermittlung des Ammoniaks in Extrakten weniger befriedigend, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht.

Ammoniak-Bestimmung in Extraktlösungen.

	Durch Luftstrom (dreistündig)	Durch Destillation
Fleischextrakt Bullox . . .	0,18 % Ammoniak-Stickstoff 0,21 „ „ „	0,40 % Ammoniak-Stickstoff 0,39 „ „ „
Muschelextrakt	0,14 „ „ „ 0,13 „ „ „	0,28 „ „ „ 0,28 „ „ „
Flüssige Würze	0,08 „ „ „ 0,04 „ „ „	0,10 „ „ „ 0,10 „ „ „
Knochenbrühextraktpaste . .	0,09 „ „ „ 0,07 „ „ „	0,12 „ „ „ 0,12 „ „ „

Es hat den Anschein, als ob das Ammoniak in den Extraktlösungen zäher zurückgehalten wird und sich nur schwer durch einen Luftstrom heraussaugen läßt. Dagegen scheint es nicht der Fall zu sein, daß aus den in den Extrakten vorkommenden Stickstoffverbindungen durch das Kochen der Lösungen mit Magnesiumoxyd merklich größere Mengen Ammoniak abgespalten werden, als Ammoniakverbindungen vorhanden sind. Denn verlängert man die Dauer des Durchsaugens, so findet man nach beiden Verfahren die folgenden übereinstimmenden Werte:

Gehalt an Ammoniakstickstoff in einem Knochenbrühextrakt

1. Durch sechsstündigen Luftstrom			2. Durch Destillation		
0,10 %	0,11 %	0,10 %	0,11 %	0,11 %	0,11 %
0,11 „	0,10 „	0,11 „	0,11 „	0,11 „	0,11 „

Offenbar führt das Destillationsverfahren zu sichereren Ergebnissen. Bei dem verhältnismäßig niedrigen Ammoniakgehalt der Fleischextrakte und ähnlicher Erzeugnisse fallen im übrigen diese Unterschiede nicht allzusehr ins Gewicht.

Die Bestimmung des Kreatins und Kreatinins.

Für die quantitative Bestimmung von Kreatinin besitzt man in dem auf der Jaffé (8) schen Reaktion beruhenden kolorimetrischen Verfahren einen gangbaren Weg. Derselbe ist zuerst von Folin (9) bei der Untersuchung des Harns und dann von Baur und Barschall (10) bei der Untersuchung von Fleischextrakt eingeschlagen worden. Das Verfahren, dessen wir uns auch bedienten, hat allerdings den Mangel, daß die Jaffésche Reaktion nicht spezifisch für Kreatinin ist, wie Wieland (11), Peter Rona (12) und William C. Rose (13) festgestellt haben. Gegenwärtig ist aber keine bessere quantitative Bestimmung von Kreatinin vorhanden. Denn das von Micko (14) angegebene Verfahren zur Isolierung des Kreatinins ist zur quantitativen Bestimmung, abgesehen von den ihm anhaftenden Unbequemlichkeiten, vor allem auch aus dem Grunde nicht geeignet, weil Verluste an Kreatinin eintreten. Da das neben Kreatinin in den Fleischextrakten vorkommende Kreatin sich durch Kochen mit Säuren unter Abgabe eines Moleküls Wasser praktisch vollständig in Kreatinin überführen

läßt, so kann man aus der Differenzbestimmung den Kreatinin- und Kreatingehalt ermitteln. Zur Anhydrisierung des Kreatins mittels Säure sind mehrere Vorschläge gemacht worden. Baur und Barschall (15) führten die Anhydrisierung des Kreatins durch 4stündiges Behandeln in $^1/_3$ normaler salzsaurer Lösung auf dem Wasserbade aus. Emmett und Grindley (16) empfahlen, die Umwandlung des Kreatins im Autoklaven bei einer Temperatur von 117 bis 120° C und einer Behandlungsdauer von 30 Minuten in $^1/_2$ normaler salzsaurer Lösung vorzunehmen. Durch die Untersuchungen von Baur und Trümpler (17), welche die bei der Überführung des Kreatins in Kreatinin obwaltenden Verhältnisse eingehend untersucht und namentlich die Geschwindigkeit dieses Vorganges unter verschiedenen Bedingungen gemessen haben, ist die Frage der vollständigen Umwandlung des Kreatins gelöst worden. Da nach unseren Erfahrungen die Umwandlung des Kreatins in Kreatinin nach der von Emmett und Grindley angegebenen Vorschrift vollständig ist, so kann wegen der leichteren Handhabung dieses Verfahren empfohlen werden.

William Rose (18) hat festgestellt, daß bei Gegenwart von Zuckerarten die Kreatinbestimmung durch die Zersetzungsprodukte des Zuckers beeinflußt wird. Nach seinen Versuchen werden diese Schwierigkeiten dadurch vermieden, daß zur Anhydrisierung des Kreatins 3%ige Phosphorsäure anstatt Normalsalzsäure zur Verwendung gelangt. Eine Nachprüfung dieser Beobachtung wurde in der Weise vorgenommen, daß einem Fleischextrakt von bekanntem Gesamt-Kreatiningehalt Rohrzucker zugesetzt wurde. In dieser zuckerhaltigen Fleischextraktlösung wurde dann das eine Mal mittels Salzsäure und das andere Mal mittels Phosphorsäure die Überführung des Kreatins in Kreatinin vorgenommen. Der Zuckerzusatz, der 25% betrug, wurde verhältnismäßig hoch bemessen, um möglichst deutliche Unterschiede zu erzielen. Die Ergebnisse waren die folgenden:

Sollwert	Mittels Salzsäure anhydrisiert	Mittels Phosphorsäure anhydrisiert
6,24% Ges.-Kreatinin	6,46% Ges.-Kreatinin	6,28% Ges.-Kreatinin
	6,59 „ „ „	6,35 „ „ „
	6,47 „ „ „	6,37 „ „ „

Hiernach fallen die Bedenken Roses, soweit Rohrzucker in Frage kommt, praktisch kaum ins Gewicht.

Die Bestimmung der Aminosäuren.

Die quantitative Ermittlung der Aminosäuren ist eine Aufgabe, die auf verschiedene Weise mit mehr oder weniger Erfolg gelöst worden ist.

a) Das β-Naphthalinsulfochloridverfahren.

Baur und Barschall (19) haben das von Emil Fischer und Bergell (20) ausgearbeitete Verfahren, die Aminosäuren in Alkali in der Form der Sulfoamidoverbindungen zu isolieren, für die quantitative Bestimmung der Aminosäuren herangezogen. Bergell (21), der dieses Verfahren bei der Untersuchung der hydrolytischen

Abbauprodukte des Fleischeiweißes angewendet hat, hält die Naphthalinsulforeaktion für geeignet, um ein ungefähres Bild von dem hydrolytischen Zustand des Fleischeiweißes zu erhalten. Im Gegensatz zu Baur und Barschall, die die Bestimmung der Aminosäuren im Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung vornehmen, stellt Bergell fest, daß die Phosphorwolframsäurenniederschläge Stickstoffverbindungen einschließen, so daß die Ergebnisse zu niedrig ausfallen. Wie Baur und Barschall auch selbst erklären, findet man bei dem Verfahren nicht die gesamte Menge der Aminosäuren. Dies könnte auf die vorangegangene Fällung durch Phosphorwolframsäure zurückzuführen sein. Von uns konnte außerdem durch besondere Versuche mittels des später beschriebenen gasanalytischen Verfahrens festgestellt werden, daß durch die Phosphorwolframsäurefällungen Aminosäuren, im besonderen auch Monoaminosäuren, wie Asparaginsäure mitgerissen werden.

Die von uns mit dem Naphthalinsulfochlorid im ursprünglichen Extrakt ohne vorangegangene Phosphorwolframsäurefällung erzielten Ergebnisse waren die folgenden:

Liebigs Fleischextrakt	1,93 %	Aminosäuren-Stickstoff
	2,58 „	„ „
	2,28 „	„ „
Bullox Fleischextrakt	2,81 „	„ „
	2,77 „	„ „
	2,79 „	„ „
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge .	2,50 „	„ „
	2,63 „	„ „
	2,30 „	„ „
Fleischextrakt Marke Dampfschiff . .	1,82 „	„ „
	1,66 „	„ „
	1,37 „	„ „

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, waren die Werte wenig übereinstimmend. Dieselbe Beobachtung machten auch Erben (22), Ignatowski (23), Forssner (24), Embden und Reese (25). Da außerdem das Verfahren langwierig und umständlich ist, wurde bei den späteren Versuchen von ihm Abstand genommen.

b) Die gasometrische Bestimmung.

Aliphatische Amine, vielfach auch Säureamide werden bei gewöhnlicher Temperatur durch salpetrige Säure nach dem folgenden Schema zersetzt:



$$R \cdot NH_2 + HNO_2 = ROH + N_2 + H_2O$$

Diesen chemischen Vorgang haben zuerst Sachße und Kormann (26) bei der Untersuchung von Pflanzenextrakten für die chemische Analyse nutzbar gemacht. Ihnen folgten andere wie Kern (27), Böhmer (28), Hans Meyer (29) und Kreusler (30). Nachdem schon von diesen das Verfahren verbessert war, verwandte Staněk (31) statt salpetriger Säure eine Lösung, die durch Einwirkung von salpetrigsaurem Natrium auf rauchende Salzsäure etwa nach der Reaktionsgleichung $2HCl + NaNO_2 = NaCl + NOCl + H_2O$ entsteht und im wesentlichen Nitrosylchlorid enthält. Hierdurch beseitigte er den Übelstand, der durch den starken Zerfall der freien salpetrigen Säure bedingt wird. Recht eingehende Untersuchungen über diese quantitative Bestimmung

von aliphatischen Aminosäuren machte van Slyke (32), teilweise gemeinsam mit Levene (33). Er wandte ebenfalls nicht freie salpetrige Säure an, sondern ließ auf die Aminosäuren eine Mischung von Natriumnitrit und Eisessig einwirken, auch vereinfachte er die Apparatur.

Wir bedienten uns des Verfahrens von Staněk, jedoch unter Verwendung einer möglichst einfachen Apparatur.

Ein als Zersetzungsgefäß dienender Kolben von zirka 200 Kubikzentimeter Inhalt ist mit einem dreifach durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch die eine Bohrung ist eine fast bis auf den Boden des Gefäßes reichende Röhre, die mit einem Kippschen Apparat verbunden ist, geleitet. Durch die zweite Bohrung ist ein mit einem Glashahn versehener Fülltrichter, der ebenfalls bis auf den Boden reicht, geführt. Durch die dritte Bohrung ist das zum Ableiten der Gase dienende Rohr, welches mit dem untern Rand des Stopfens abschließt, geführt. Dieses letzte Rohr ist durch einen Gummischlauch, an dem sich ein Quetschhahn befindet, mit dem Azotometer verbunden. Die Ausführung der Bestimmung gestaltet sich nun folgendermaßen:

Das Zersetzungsgefäß wird unter Zusatz von 5 bis 10 Gramm Kochsalz mit soviel Kubikzentimetern der zu untersuchenden Flüssigkeit, daß der Aminosäurengehalt 0,05 bis 0,3 Gramm beträgt, beschickt und mit dem Gummistopfen verschlossen, nachdem der zum Einlassen der Nitrosylchloridlösung dienende Fülltrichter zuvor bis zu dem Hahn mit konzentrierter Kochsalzlösung gefüllt ist. Dann wird aus dem Kippschen Apparat ein schwacher Kohlensäurestrom bis zur vollständigen Verdrängung der Luft geleitet. Nach Abstellung des Kohlensäurestromes werden durch den Fülltrichter zunächst 30 Kubikzentimeter Nitrosylchloridlösung und hierauf noch 20 Kubikzentimeter gesättigte Kochsalzlösung in das Zersetzungsgefäß eingelassen, wobei darauf zu achten ist, daß das Rohr des Fülltrichters noch oberhalb des Hahnes mit Kochsalzlösung gefüllt bleibt. Alsbald nach dem Eintritt der Nitrosylchloridlösung in die Untersuchungsflüssigkeit beginnt die Zersetzung der Aminosäuren, und in kleinen Bläschen steigt das erzeugte Gas, welches aus Stickstoff und Stickoxyd besteht, in die Sperrflüssigkeit ein. Um die vollständige Zersetzung der Aminosäuren herbeizuführen, ist es nötig, durch öfteres Umschütteln die Reaktion zu verstärken. Nach einstündiger Dauer ist dieselbe vollendet. Das im Zersetzungsgefäß befindliche Gas wird durch nachgefüllte Kochsalzlösung in das Azotometer getrieben und dieses gegen das Zersetzungsgefäß abgeschlossen. Aus dem Azotometer gelangt das Gasgemisch, Stickstoff und Stickoxyd, in eine Hempelsche Pipette, die zwecks Absorption des Stickoxyds mit einer Permanganatlösung beschickt ist.

Das Stickoxyd färbt die Permanganatlösung grün. Die grüne Farbe verschwindet beim Schütteln, wenn das Stickoxyd vollständig absorbiert ist, was nach etwa 10 Minuten eintritt. Schließlich wird der übrig bleibende Stickstoff in der üblichen Weise in einer Gasbürette gemessen. Die Hälfte des ermittelten Stickstoffs entspricht dem aus den Aminogruppen stammenden Stickstoff.

Zur Prüfung des Verfahrens wurden Versuche mit bekannten Mengen Asparaginsäure ausgeführt.

Bei einer berechneten Menge von 26,2 mg Stickstoff ergab die Analyse

25,9 mg Stickstoff
26,0 „ „
26,2 „ „

Zur Prüfung der Frage, wie sich das Verfahren bei der Untersuchung des Fleischextraktes, wo ein Gemisch von Aminosäuren gemeinsam mit anderen Stoffen vorhanden ist, bewährt, wurde in Liebigs Fleischextrakt der Aminosäurenstickstoff bestimmt, dann zu einer abgemessenen Menge desselben Extraktes eine abgemessene Menge Asparaginsäure zugesetzt und in diesem Gemenge von Fleischextrakt und Asparaginsäure der Aminosäurenstickstoff festgestellt.

Aminosäurenstickstoff	
in 5 g Fleischextrakt	in 5 g Fleischextrakt + 0,1 g Asparaginsäure (10,5 mg N_2)
5,70 mg	18,16 mg
5,95 „	15,03 „
4,52 „	15,35 „
5,29 „	16,02 „
5,12 „	18,27 „
4,71 „	17,56 „
Mittelwert 5,22 mg	gefundener Mittelwert 16,73 mg
	berechneter Mittelwert 15,72 „

Somit entspricht einem Sollwert von 15,72 mg ein gefundener Wert von 16,73 mg; d. h. die zugesetzte Menge Asparaginsäure wird in der Fleischextraktlösung innerhalb der Fehlergrenzen wiedergefunden.

Die Beobachtung von van Slyke (34) und H. Euler (35), daß salpetrige Säure auf Ammoniak bedeutend langsamer als auf Aminosäuren einwirkt und ersteres infolgedessen nur unvollständig mitbestimmt wird, konnte bestätigt werden.

In einer Ammoniumchloridlösung, die 0,26 % Stickstoff enthielt, wurden bei vier Versuchen gefunden:

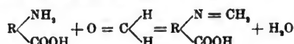
0,009 % Stickstoff
0,012 „ „
0,007 „ „
0,008 „ „
im Mittel 0,009 % Stickstoff

Demzufolge wird das Ammoniak so wenig von Nitrosylchlorid angegriffen, daß man es bei den geringen Mengen, wie sie im Fleischextrakt vorkommen, vernachlässigen könnte. Fast durchgängig kommen im Fleischextrakt etwa 0,40 % Ammoniakstickstoff vor. Da nach den obigen Versuchen durch Nitrosylchlorid höchstens $^1/_{20}$ des vorhandenen Ammoniakstickstoffs zersetzt wird, wäre der durch die Gegenwart des Ammoniaks entstehende Fehler so gering, daß er namentlich in Anbetracht der sonstigen Genauigkeit nicht in Betracht käme. Gleichwohl haben wir bei unseren Versuchen die Aminosäurenbestimmung in ammoniakfreier Lösung vorgenommen. Wir verfuhren dabei so, daß wir in einer 2 g Fleischextrakt enthaltenden Lösung das

Ammoniak durch Kochen mit Magnesiumoxyd entfernten, nach dem Erkalten die Magnesia mit Salzsäure auflösten und dann von dieser Lösung die Hälfte zur Aminosäurenbestimmung ansetzten.

c) Die Formoltitration.

H. Schiff (36) hatte gefunden, daß neutrale Lösungen von Aminosäuren und Proteinen durch Zusatz von neutralisiertem Formaldehyd sauer werden. Auch war es ihm gelungen, die Methylenverbindungen, die durch Formalineinwirkung auf einige leicht zugängliche Aminosäuren entstehen, zu isolieren. Der Vorgang läßt sich durch das folgende Reaktionsschema ausdrücken:



Die Aminogruppe wird demnach in eine Methylenimidogruppe überführt, deren basische Eigenschaften nicht mehr ausreichen, um den sauren Charakter der Carboxylgruppe auszugleichen. Sörensen (37) arbeitete auf dieser Grundlage ein Verfahren aus, um bei der Untersuchung proteolytischer Spaltungsvorgänge die entstehenden Aminosäuren titrimetrisch zu bestimmen. In gleicher Weise kann auch Ammoniak bestimmt werden, wie dies unabhängig voneinander bereits vorher Ronchèse (38) und Malfatti (39) getan haben. Sörensen ersah aus den Versuchen von Schiff, daß die Reaktion umkehrbar und von dem Grade der Verdünnung abhängig ist. Da der Umschlag der verschiedenen Indikatoren bei weit verschiedenem Wasserstoffionengehalt der Flüssigkeit erfolgt, ist es möglich, durch passende Wahl des Indikators den Umschlag bei der maßgeblichen Wasserstoffionenkonzentration eintreten zu lassen. Geringe Änderungen des Verfahrens hat Henriques (40) vorgenommen, indem er die vorhandenen störenden Karbonate und Phosphate durch Baryumhydroxyd ausfällte und dann die Lösung wieder gegen Lackmus neutralisierte. Den Einwurf Malfattis (41), daß es nicht angängig sei, die auf Lackmusneutralität gebrachte Lösung hernach mit Phenolphthalein zu titrieren, haben Sörensen und Henriques (42) widerlegt. Ihrer Auffassung haben sich auch Obermayer und Wilheim (43) angeschlossen. Durch Versuche de Jagers (44) veranlaßt, haben Sörensen und Henriques (45) später den Einfluß des Ammoniaks auf die Formoltitration geprüft und dabei festgestellt, daß große Mengen Ammoniak zu Fehlern führen, kleine Mengen aber belanglos sind. Um diese Fehlerquelle auszuschalten, schlagen sie vor, das Ammoniak vor der Formoltitration zu entfernen. Schließlich ist Micko (46) bei der Untersuchung von Fleischextrakten und ähnlichen Erzeugnissen folgendermaßen verfahren:

Einer 3 g Fleischextrakt oder 5 g flüssige Würze enthaltenden Lösung werden 2 g festes Baryumchlorid zugesetzt. Nach dem Auflösen des überschüssigen Baryumchlorids sowie nach Zusatz von 1 ccm Phenolphthaleinlösung (0,5 g Phenolphthalein in 100 ccm 50%igem Alkohol) wird die Flüssigkeit erst bis zur deutlichen Rotfärbung und dann noch mit einem Überschuß von 5 ccm gesättigter Barythydratlösung versetzt und mit Wasser bis auf 100 ccm verdünnt. Von dem Filtrat werden 80 ccm abgemessen, unter Verwendung von Azolithminpapier mit etwa $^1/_5$ N-Salzsäure neutralisiert und dann abermals auf 100 ccm gebracht. 20 ccm der letzten Lösung werden

mit 10 ccm neutralisierter Formollösung versetzt und sodann mit $^1/_5$ N-Lauge unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator auf schwach Rot titriert. Ist die zu titrierende Flüssigkeit sehr dunkel gefärbt, so wird sie noch mit 20 ccm Wasser verdünnt und statt mit 10 ccm mit 20 ccm Formol versetzt. Nach der vorstehenden Vorschrift wurde auch seitens der Verfasser das Formolverfahren angewandt, jedoch mit der Maßnahme, daß die Titration mittels $^1/_{10}$ N-Lösungen vorgenommen und auf den Umschlag des Phenolphthaleins von „Farblos" in deutliches „Rot" titriert wurde. Hervorgehoben soll nur werden, daß zwecks besserer Ausfällung der Kohlensäure und der Phosphate die mit Baryumchlorid und Baryumhydroxyd versetzten Lösungen etwa 12 Stunden bis zum Abfiltrieren stehen gelassen wurden, da nach unserer Erfahrung das Filtrat trübe wurde, wenn die Filtration kurze Zeit nach dem Zusatz von Baryumhydroxyd erfolgte. Der Grund hierfür scheint der zu sein, daß nach den von M. Siegfried (47) ausgeführten Untersuchungen Kohlensäure mit Aminosäuren zunächst lösliche Carbaminate bildet, aus denen die Kohlensäure nur allmählich abgespalten wird. Nach Abschluß der vorliegenden Versuche ist von Grünhut (48) über eine Abänderung des Formolverfahrens berichtet worden. Auch dieses abgeänderte Verfahren ist von den Verfassern einer Nachprüfung unterzogen worden mit dem in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellten Ergebnis.

Aminosäurenbestimmung (% Aminosäurenstickstoff)

	nach Grünhut		nach Sörensen		
	Ammoniak nicht entfernt	Ammoniak entfernt	Ammoniak nicht entfernt	Ammoniak entfernt durch	
				Luftstrom	Destillation
	%	%	%	%	%
Fleischextrakt Bullox	1,16 1,16	1,16 1,16	1,40 1,37	1,35 1,33	1,10 1,11
Muschelextrakt	1,79 1,76	1,68 1,67	1,88 1,88	1,88 1,88	1,40 1,46
Flüssige Würze	0,51 0,51	0,47 0,46	0,55 0,56	0,56 0,56	0,49 0,47
Knochenbrühextraktpaste	3,90 3,91	3,90 3,92	3,91 3,91	3,93 3,93	3,68 3,71

Eine Schwierigkeit bei dem Verfahren der Bestimmung der Aminosäuren beruht auf der genauen Neutralisierung der Untersuchungsflüssigkeit nach dem Ausfällen der Phosphate und der Kohlensäure mittels Baryumchlorid und Baryumhydroxyd. Die Schwierigkeit dieser Neutralisation sucht Grünhut durch kolorimetrische Vergleiche mit einer Standardlösung von Neutralrot zu erreichen. Dieser Gedanke hat viel für sich; doch darf nicht verkannt werden, daß dem kolorimetrischen Verfahren dadurch, daß die Extraktlösungen eine starke gelb-rötliche oder dunkelbraune Eigenfarbe besitzen, eine besondere Schwierigkeit erwächst. Dies macht das Auffinden des Umschlags des Neutralrotindikators von Orange nach Rosenrot unsicher. Immerhin

gelingt es bei geeigneter künstlicher Beleuchtung und einiger Erfahrung, den fraglichen Punkt herauszufinden. Bei dem späteren Austitrieren der Aminosäuren, wobei Phenolphthalein als Indikator dient, stört das anwesende Neutralrot weniger, wenn auch in Betracht zu ziehen ist, daß es sich hierbei um eine Mischung von 4 Farben (Eigenfarbe der Lösung, Orange und Rosenrot des Neutralrots und Rot des Phenolphthaleins) handelt. Da bei der vorerwähnten ersten Neutralisation mittels Azolithmin einerseits auf blauviolett, mittels Neutralrot andrerseits auf orange-rosenrot titriert wird, so kann hierdurch ein größerer Unterschied in den Analysenbefunden nicht hervorgerufen werden, da die beiden genannten Indikatorumschläge bei einem H·-Gehalt von ungefähr 10^{-7} eintreten. Dem Anschein nach führt das Verfahren nach Grünhut zu etwas geringeren Befunden als das von Micko und den Verfassern angewandte. Zum Teil wird dieser Unterschied dadurch bedingt sein, daß nach Grünhut auf den Umschlag farblos-blaßrot des Phenolphthaleins, nach dem bisherigen Verfahren jedoch auf Rot, den sogenannten drittstufigen Umschlag des Phenolphthaleins, titriert wird, was nach Sörensen zu genaueren Ergebnissen führt. In den hier untersuchten Fällen wird hierdurch ein Unterschied von 0,2—0,3 ccm $^1/_{10}$ Normallauge, entsprechend 0,28—0,42 mg Stickstoff hervorgerufen.

Bei Anwendung der Formoltitration ist in Betracht zu ziehen, daß das Ammoniak mittitriert wird. Um den Gehalt an Ammoniak- und Aminosäurenstickstoff festzustellen, haben wir in gleicher Weise wie Micko das Ammoniak durch Destillation bestimmt und dann den gefundenen Betrag von dem bei der Formoltitration erhaltenen Ergebnis in Abzug gebracht. Grünhut hält es für empfehlenswert, das Ammoniak vor der Formoltitrierung auszutreiben, da erfahrungsgemäß die Summe von Ammoniak- und Aminostickstoff zu niedrig gefunden würde. Zu diesem Zwecke bediente er sich des eingangs erwähnten Verfahrens von Folin und Spiro, indem er zugleich den Ammoniakstickstoff quantitativ bestimmte. Wie bereits oben erörtert worden ist, erwies sich aber diese Ammoniakbestimmung insofern nicht zuverlässig, als man nicht mit Sicherheit das gesamte Ammoniak erfaßt. Infolgedessen haben wir das Ammoniak mit Magnesia durch Destillation ausgetrieben und dann versucht, in der so vom Ammoniak befreiten Lösung die Aminosäuren formoltitrimetrisch zu bestimmen, was auch gelang. Wenn bei unseren Versuchen die Ergebnisse im Gesamtgehalt des Ammoniak- und Aminostickstoffs nicht genau übereinstimmen, so liegt dies daran, daß bei der Ermittlung des Aminosäurengehaltes nach dem Formolverfahren in den hier in Frage kommenden Grenzen mit einem Versuchsfehler bis zu 10% gerechnet werden muß. Da aber immerhin die Möglichkeit nicht ganz ausgeschlossen ist, daß durch das Kochen mit Magnesia einzelne Stickstoffarten sich verändern können, so dürfte es sich doch empfehlen, dem von Micko und uns angewandten Verfahren den Vorzug zu geben.

Vergleich zwischen dem gasometrischen und titrimetrischen Verfahren.

Wichtig war die Frage, ob das gasometrische und das titrimetrische Verfahren zu denselben Ergebnissen führe, trotzdem zwei ganz verschiedene Reaktionen die

Grundlagen der Verfahren bilden. Zur Lösung dieser Frage wurde der Aminosäurengehalt in den ursprünglichen Extrakten nach beiden Verfahren bestimmt.

Untersuchte Proben	Gehalt an Aminosäurenstickstoff nach dem	
	gasometrischen Verfahren %	titrimetrischen Verfahren %
Selbst hergestellter Fleischextrakt .	1,30	1,28
Liebigs Fleischextrakt	1,04	1,01
Fleischextrakt Bullox	1,18	1,25
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	1,04	0,96
Fleischextrakt Marke Dampfschiff .	1,39	1,36
Armours Fleischextrakt	1,23	1,26
Australischer Fleischextrakt . . .	1,01	1,01
Fleischextrakt K. D. W.	1,15	1,18
„ Ebi	1,22	1,23
„ Wertheim	1,34	1,48
„ Marke Ochsenkopf .	1,38	1,27
„ „ Scheuermann .	1,33	1,26
„ „ Wilke . . .	1,43	1,32
„ „ Pomona . .	1,47	1,51
„ „ Gerold . . .	1,41	1,49
Pflanzenextrakt Viska	1,60	1,68
„ Viskon	1,69	1,61

Die Zusammenstellung zeigt, daß nach beiden Verfahren im wesentlichen dieselbe Menge Aminosäurenstickstoff gefunden wird. Zu einem anderen Ergebnis kommt C. W. Cook (49), der nach dem gasometrischen Verfahren nahezu doppelt soviel Aminosäurenstickstoff gefunden hat als nach dem titrimetrischen Verfahren.

Abderhalden und Kramm (50), die ebenfalls beide Verfahren miteinander verglichen haben, halten es für angebracht, zur Erzielung einwandfreier Ergebnisse beide Verfahren nebeneinander anzuwenden. Sie geben dem van Slykeschen Verfahren gegenüber der Formoltitration den Vorzug schnellerer Durchführbarkeit, glauben aber auf die Anwendung des formoltitrimetrischen Verfahrens nicht verzichten zu können, weil mit Hilfe desselben bei unbekannten Gemischen das van Slykesche Verfahren von Fall zu Fall darauf hin kontrolliert werden muß, ob die salpetrige Säure hinreichend lange eingewirkt hat und demgemäß der Aminosäurenstickstoff vollkommen bestimmt worden ist. Wir halten das von uns angewendete gasometrische und titrimetrische Verfahren für gleichwertig; ungeachtet dessen ist aber die gleichzeitige Anwendung beider Verfahren zur Kontrolle empfehlenswert. Bemerkt sei ferner noch, daß wir bei der Bestimmung der Aminosäuren im Phosphorwolframsäurefiltrat es vorgezogen haben, das gasometrische Verfahren anzuwenden, weil die durch die Phosphorwolframsäure hervorgerufene Färbung bei der Titration stört.

Die Hydrolyse.

Über den hydrolytischen Abbau der Proteine ist eine größere Anzahl Veröffentlichungen (51) erschienen, in denen verschiedene Wege vorgeschlagen worden sind. Wir führten die Hydrolyse mittels Salzsäure vom spez. Gewicht 1,19 im Druckkölbchen bei 117° bis 120° aus und verwendeten für 5 g Fleischextrakt 15 ccm Säure, da nach Abderhalden (51[a]) erfahrungsgemäß von der Säure mindestens das dreifache Gewicht der Eiweißsubstanz erforderlich ist. Um einen Anhalt über die Beendigung der Hydrolyse zu gewinnen, wurden Versuche über den Einfluß der Versuchsdauer angestellt.

Gehalt an Aminosäurenstickstoff im Fleischextrakt

Probe 1	nach einer Hydrolyse von
2,39 %	1 Std.
2,62 „	2 „
3,11 „	3 „
3,10 „	6 „
Probe 2	**nach einer Hydrolyse von**
3,77 %	3 Std.
3,84 „	18 „

Hiernach ist die Behandlungsdauer auf 3 Stunden zu bemessen.

II. Die Untersuchungsergebnisse.

Die Untersuchung erstreckte sich auf eine Anzahl Fleischextrakte verschiedener Herkunft sowie auf Pflanzen- und Knochenbrühextrakte. Da diese Erzeugnisse dazu dienen, die im Haushalt hergestellte Fleischbrühe zu ersetzen, schien es angebracht, letztere zum Vergleich heranzuziehen. Zu diesem Zwecke wurden 500 ccm Brühe aus 500 g knochen- und fettfreiem Rindfleisch, von dem nach Möglichkeit Sehnen und ähnliches Gewebe entfernt waren, durch zweistündiges Kochen bereitet und in gleicher Weise wie die Extrakte untersucht. Bemerkt sei, daß zur Schmackhaftmachung einer so hergestellten Brühe ein Zusatz von 5 g Kochsalz auf 1 l Brühe erforderlich ist. Die nachstehenden Angaben beziehen sich jedoch auf Brühe ohne Kochsalzzusatz.

Chemische Zusammensetzung von 500 ccm Brühe aus 500 g Fleisch.

Gesamt-Stickstoff	Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	Aminosäurenstickstoff in				Ammoniakstickstoff in		
		ursprünglicher Brühe		Phosphorwolframsäure-Filtrat gasometrisch	hydrolysierter Brühe gasometrisch	ursprünglicher Brühe	Phosphorwolframsäure-Filtrat	hydrolysierter Brühe
		gasometrisch	titrimetrisch					
1,546 g	1,175 g	0,213 g	0,210 g	0,031 g	0,506 g	0,064 g	0,026 g	0,144 g

Kreatinin-stickstoff	Gesamt-Kreatinin-stickstoff	Kreatin-stickstoff	Asche	NaCl (aus Cl berechnet)	Trocken-substanz
0,197 g	0,402 g (= 1,081 g Gesamt-Kreatinin)	0,205 g	3,276 g	0,395 g	13,096 g

Auf Trockensubstanz berechnet, ergibt sich das folgende Bild.

Gesamt-Stickstoff	Durch Phosphor-wolfram-säure fällbarer Stickstoff	Aminosäurenstickstoff in			Ammoniakstickstoff in		
		ursprüng-licher Substanz	Phosphor-wolfram-säure-Filtrat	hydroly-sierter Substanz	ursprüng-licher Substanz	Phosphor-wolfram-säure-Filtrat	hydroly-sierter Substanz
11,77 %	8,96 %	1,62 %	0,23 %	3,89 %	0,48 %	0,20 %	1,10 %

Kreatinin-stickstoff	Gesamt-Kreatinin-stickstoff	Kreatin-stickstoff	Asche	NaCl (aus Cl berechnet)
1,50 %	3,07 % (= 0,26 % Gesamt-Kreatinin)	1,57 %	25 %	3,00 %

Unter Zugrundelegung eines durchschnittlichen Wassergehaltes für Fleischextrakt von 20 Prozent erhält man demnach aus 500 g Fleisch rund 16 g Extrakt von nachstehender Zusammensetzung:

Gesamt Stickstoff	Durch Phosphor-wolfram-säure fällbarer Stickstoff	Aminosäurenstickstoff gasometrisch in			Ammoniakstickstoff in		
		ursprüng-licher Substanz	Phosphor-wolfram-säure-Filtrat	hydroly-sierter Substanz	ursprüng-licher Substanz	Phosphor-wolfram-säure-Filtrat	hydroly-sierter Substanz
0,42 %	7,37 %	1,30 %	0,18 %	3,11 %	0,38 %	0,16 %	0,88 %

Kreatinin-Stickstoff	Gesamt-Kreatinin Stickstoff	Kreatin-Stickstoff	Asche	NaCl (aus Cl berechnet)	Wasser	Trocken-Substanz
1,20 %	2,46 % (= 6,60 % Gesamt-Kreatinin)	1,26 %	20 %	2,40 %	20 %	80 %

Zum Vergleich seien Untersuchungsergebnisse von anderen laboratoriumsmäßig hergestellten Extrakten angeführt. So gewannen Baur und Trümpler (52) aus 500 g Fleisch etwa 15—17 g Extrakt, welchen sie in der Weise bereiteten, daß aus feingehacktem Fleisch ausgelaugter und hernach ausgepreßter Saft unter vermindertem Druck bei 70° eingedickt wurde. Der Gesamt-Kreatiningehalt dieses Extraktes betrug 8,24 % (= 3,05 % Kreatininstickstoff). Micko (53), der Extrakt ebenso wie wir aus gekochter Fleischbrühe hergestellt hat, gibt folgende Zahlen an.

Trockensubstanz	Asche	NaCl aus Cl berechnet	Gesamt-Stickstoff	Aminosäurenstickstoff	Albumosenstickstoff	Gesamt-Kreatininstickstoff	Xanthinkörper-Stickstoff
69,59 %	18,69 %	2,16 %	7,65 %	0,96 %	5,72 %	2,27 % (= 6,12 % Gesamt-Kreatinin)	0,56 %

Auf Trockensubstanz berechnet.

Asche	NaCl aus Cl berechnet	Gesamt-Stickstoff	Aminosäurenstickstoff	Albumosenstickstoff	Gesamt-Kreatininstickstoff	Xanthinkörperstickstoff
26,87 %	3,10 %	11,00 %	1,38 %	8,22 %	3,27 %	0,80 %

Bergell (54) fand in einer aus 500 g Fleisch bereiteten Brühe 1,95 g Gesamtstickstoff: er erhielt in einem anderen Falle aus 500 g Fleisch etwa 20 g Extrakt mit einem Gesamtstickstoffgehalt von 10,03 %. Seine Ergebnisse weichen der verschiedenartigen Herstellung entsprechend untereinander und von den unserigen etwas ab, und zwar einmal nach oben und einmal nach unten. Die von Micko und uns gefundenen Zahlen stimmen gut überein. Zuletzt sind von Lebbin (55) Untersuchungen an selbsthergestellten Extrakten angestellt worden. Wenn sich einerseits die Untersuchungsergebnisse in ähnlichen Grenzen wie oben bewegen, so geht doch andererseits aus diesen Untersuchungen hervor, daß die Herstellungsart und die Beschaffenheit des Fleisches die Zusammensetzung der Extrakte beeinflussen.

Die bei der Untersuchung der im Handel erhältlichen Fleischextrakte gewonnenen Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen I und II (S. 238 u. 239 und 240 u. 241) wiedergegeben. Die angeführten Werte sind das Mittel aus 3 Parallelversuchen.

Hiernach nähert sich Liebigs Fleischextrakt am meisten dem selbstbereiteten Extrakt. Die übrigen Extrakte weichen mehr oder weniger sowohl hinsichtlich des Gesamt-Stickstoffs und der einzelnen Stickstoffverbindungen als auch hinsichtlich des Aschen- und Chlorgehalts von dem im Laboratorium hergestellten ab. Überhaupt eine Ausnahmestellung nimmt Armours Fleischextrakt ein, eine Beobachtung, die

Zusammensetzung dem Handel entnommener

Tabelle 1. Die

	Gesamtstickstoff	Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	Aminosäurenstickstoff im ursprünglichen Extrakt		Phosphorwolframsäure-Filtrat	hydroysierten Extrakt
			gasometrisch	titrimetrisch	gasometrisch	gasometrisch
	%	%	%	%	%	%
Selbsthergestellter Fleischbrühextrakt	9,42	7,37	1,30	1,28	0,18	3,11
Liebigs Fleischextrakt	9,75	7,35	1,04	1,01	0,13	3,11
Fleischextrakt Bullox	9,79	6,96	1,18	1,25	0,47	3,16
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	8,28	5,78	1,04	0,96	0,60	3,77
Fleischextrakt Marke Dampfschiff	8,69	6,68	1,39	1,36	0,68	2,85
Armours Fleischextrakt	7,26	5,03	1,23	1,26	0,44	3,08
Australischer Fleischextrakt	8,44	5,91	1,01	1,01	0,46	3,04
Fleischextrakt KDW	8,17	5,75	1,15	1,18	0,44	3,45
„ Ebi	7,83	4,86	1,22	1,23	0,47	3,57
„ Wertheim	7,96	5,03	1,34	1,48	0,45	3,25
„ Ochsenkopf	8,12	5,58	1,38	1,27	0,29	3,57
„ Scheuermann	8,47	5,71	1,33	1,26	0,27	3,59
„ Wilke	8,98	6,70	1,43	1,32	0,26	3,83
„ Pomona	8,79	6,70	1,47	1,51	0,28	3,82
„ Gerold	8,49	5,91	1,41	1,49	0,29	3,33
Pflanzenextrakt Viska	4,38	2,77	1,60	1,68	0,79	3,39
Pflanzenextrakt Viskon	4,48	3,01	1,69	1,61	0,46	3,28
Knochenbrühextrakt	7,48	—	—	3,80	—	4,25

auch Micko (56) gemacht hat und ihn zur Annahme veranlaßte, daß dieser Extrakt aus Pökellake herrühre. Er ist daher im folgenden bei der Betrachtung von Mittelwerten nicht berücksichtigt.

Die früher recht strittigen Ansichten über die stickstoffhaltigen Verbindungen der Fleischextrakte sind in den letzten Jahren durch die Arbeiten Mickos und anderer zu einer gewissen Klärung gekommen. Es steht jetzt fest, daß zu den stickstoffhaltigen Bestandteilen Ammoniak, Aminosäuren, Kreatin, Kreatinin und Xanthinkörper gehören. Noch nicht hinreichend geklärt ist das Vorhandensein von Proteinen, und noch sehr der Aufklärung bedarf die Zusammensetzung des Phosphorwolframsäureniederschlages. Die Phosphorwolframsäure fällt eine Anzahl von Stickstoffverbindungen. Hierzu gehören nach Abderhalden (57) Eiweiß, Ammoniak, Purinkörper und Kreatinin, dagegen nicht Aminosäuren und Kreatin. Die von Abderhalden vertretene Ansicht,

Fleischextrakte und Ersatzpräparate.

ursprünglichen Extrakte.

Ammoniakstickstoff im ursprünglichen Extrakt	Ammoniakstickstoff im Phosphorwolframsäure-Filtrat	Ammoniakstickstoff im hydrolysierten Extrakt	Kreatininstickstoff	Kreatinstickstoff	Gesamt-Kreatininstickstoff	Gesamt-Kreatin	Asche	Chlor als Chlornatrium berechnet	Trockensubstanz	Wasser
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
0,38	0,16	0,88	1,20	1,26	2,46	6,62	20,00	2,40	80,00	20,00
0,37	0,07	0,84	1,79	0,53	2,32	6,24	20,46	3,00	81,61	18,39
0,40	0,13	0,83	0,29	1,85	2,14	5,76	16,96	2,04	83,89	16,11
0,37	0,15	0,84	1,64	0,85	2,49	6,70	16,59	2,74	73,68	26,32
0,39	0,27	0,86	1,12	1,07	2,19	5,89	22,65	4,07	81,29	18,71
0,36	0,17	0,79	0,37	0,24	0,61	1,65	23,21	7,95	82,61	17,39
0,35	0,16	0,79	1,02	0,58	1,60	4,30	23,31	3,86	76,93	23,07
0,34	0,17	0,82	0,40	0,72	1,12	3,01	20,32	7,10	75,66	24,34
0,33	0,19	0,80	0,88	0,75	1,63	4,39	27,46	10,36	84,20	15,80
0,33	0,12	0,81	1,09	0,43	1,52	4,09	24,09	7,31	82,93	17,07
0,38	0,11	0,80	1,11	0,70	1,81	4,87	25,04	7,50	81,54	18,46
0,37	0,11	0,90	1,08	0,81	1,89	5,08	20,93	6,49	82,51	17,49
0,41	0,14	1,08	1,39	1,15	2,54	6,83	20,20	4,56	81,78	18,22
0,37	0,14	1,09	1,41	0,70	2,11	5,68	21,60	3,78	84,81	15,19
0,37	0,14	1,07	1,83	0,13	1,99	5,35	23,67	4,10	83,14	16,86
0,14	0,15	0,40	nicht vorhanden				43,86	33,90	82,37	17,63
0,40	0,32	0,65					40,39	33,26	80,24	19,76
0,12	—	0,34	in meßbaren Mengen nicht vorhanden				46,00	17,99	92,58	7,42

daß Aminosäuren nicht gefällt werden, steht aber nicht im Einklang mit früher gemachten Beobachtungen (58), nach denen man mit einer Fällbarkeit der Aminosäuren bei Gegenwart anderer fällbarer Bestandteile in den betreffenden Lösungen durch Phosphorwolframsäure zu rechnen hat. Daß beispielsweise Asparaginsäure in ihrer reinen wässerigen Lösung durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt wird, konnte durch besondere Versuche bestätigt werden. In den nach dem Zusatz von Phosphorwolframsäure filtrierten Lösungen fanden sich

26,1 mg Aminosäurenstickstoff
26,1 „ „
25,5 „ „

wieder bei einem Sollwert von 26 mg.

Zusammensetzung dem Handel entnommener

Tabelle II. Die

	Gesamtstickstoff %	Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff %	Aminosäurenstickstoff im ursprünglichen Extrakt %	Phosphorwolframsäure-Filtrat %	hydrolysierten Extrakt %
Selbsthergestellter Fleischbrühextrakt	11,77	8,96	1,62	0,23	3,89
Liebigs Fleischextrakt	11,94	8,99	1,25	0,16	3,81
Fleischextrakt Bullox	11,67	8,29	1,40	0,59	3,76
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	11,24	7,84	1,41	0,81	5,11
Fleischextrakt Marke Dampfschiff	10,70	8,22	1,71	0,83	3,51
Armours Fleischextrakt	8,78	6,09	1,48	0,54	3,73
Australischer Fleischextrakt	10,98	7,68	1,32	0,60	3,95
Fleischextrakt KDW	10,81	6,43	1,52	0,57	4,56
„ Ebi	9,09	5,64	1,44	0,54	4,24
„ Wertheim	9,35	6,02	1,68	0,55	3,91
„ Ochsenkopf	9,96	6,84	1,69	0,35	4,37
„ Scheuermann	10,27	6,92	1,58	0,33	4,64
„ Wilke	10,98	8,16	1,74	0,31	4,68
„ Pomona	10,13	7,72	1,74	0,32	4,50
„ Gerold	10,21	7,11	1,71	0,35	4,00
Pflanzenextrakt Viska	5,41	3,36	1,94	0,95	4,11
„ Viskon	5,59	3,75	2,10	0,58	4,09
Knochenbrühextrakt	8,08	—	4,10	—	4,59

Die Verhältnisse gestalten sich jedoch bei Gegenwart von Fleischextrakt wesentlich anders, wie die folgenden Versuchsergebnisse zeigen:

Nach dem Fällen einer Lösung von 1 g Fleischextrakt, die an sich 10,4 mg Aminosäurenstickstoff enthielt, fanden sich im Phosphorwolframsäure-Filtrat 1,82, 1,36, 1,45, 1,44, 1,33, 148, im Mittel 1,40 mg Aminosäurenstickstoff vor.

Nach dem Fällen einer Lösung, die 0,5 g desselben Fleischextrakts sowie 0,1 g Asparaginsäure enthielt, was einem Gesamtgehalt an Aminosäurenstickstoff von 15,6 mg entsprach, fanden sich im Filtrat nur 9,0, 7,5, 7,0, 8,6, 8,3, 7,3, im Mittel 8,3 mg Aminosäurenstickstoff vor.

Durch die Phosphorwolframsäurefällung werden demnach die Aminosäuren des Fleischextraktes zum größten Teil und die zugesetzte Asparaginsäure ebenfalls teilweise und zwar in wechselnden Mengen mitgerissen. Ähnliche Verhältnisse treten nach unseren Erfahrungen auch beim Ammoniak in Erscheinung, wodurch sich die widersprechenden Literaturangaben (59) betreffs Fällbarkeit des Ammoniaks durch Phosphorwolframsäure eher erklären dürften als durch die Angabe Pfaundlers (60), daß die

Fleischextrakte und Ersatzpräparate.

wasserfreien Extrakte.

Ammoniakstickstoff im			Kreatininstickstoff	Kreatinstickstoff	Gesamt-Kreatininstickstoff	Gesamt Kreatinin	Asche	Chlor als Chlornatrium berechnet
ursprüngl. lichen Extrakt	Phosphorwolframsäure-Filtrat	hydrolysierten Extrakt						
%	%	%	%	%	%	%	%	%
0,48	0,20	1,10	1,50	1,57	3,07	8,26	25,00	3,00
0,43	0,09	1,03	2,19	0,65	2,84	7,64	25,06	3,67
0,48	0,15	0,98	0,35	2,20	2,55	6,86	20,22	2,41
0,50	0,19	1,14	2,22	1,16	3,38	9,09	22,23	3,72
0,46	0,33	1,06	1,38	1,31	2,69	7,24	26,63	5,00
0,44	0,20	0,95	0,45	0,29	0,74	1,99	28,17	9,63
0,46	0,21	1,02	1,33	0,76	2,09	5,62	30,30	5,07
0,44	0,25	1,08	0,53	0,95	1,48	3,98	26,72	9,39
0,39	0.22	0,95	1,02	0,87	1,89	5,08	31,86	12,02
0,39	0,14	0,97	1,31	0,52	1,83	4,92	28,97	8,81
0,46	0,13	0,98	1,35	0,87	2,22	5,97	30,83	9,41
0,44	0,13	1,09	1,39	0,91	2,30	6,19	25,37	7,83
0,51	0,17	1,32	1,69	1,40	3,09	8,31	27,15	5,56
0,42	0,16	1,29	1,63	0,80	2,43	6,54	24,88	4,28
0,44	0,18	1,29	2,20	0,19	2,39	6,48	28,29	4,93
0,17	0,18	0,48	nicht vorhanden				53,24	41,16
0,50	0,40	0,80					50,33	41,45
0,13	—	0,36	in meßbaren Mengen nicht vorhanden				49,46	19,62

Unterschiede durch die verschiedene Beschaffenheit der Phosphorwolframsäurepräparate entstehen. Nach Levene und Beatty (61) ist das Verhalten auch reiner Aminosäurelösungen gegenüber Phosphorwolframsäure sehr verschieden.

Wie aus der folgenden Tabelle III hervorgeht, verbleibt von dem durch Phosphorwolframsäure nicht ausfällbaren Stickstoff nach Abzug des im Filtrat vorhandenen Ammoniak-, Aminosäuren- und Kreatinstickstoffs noch ein in fast allen Fällen wesentlicher Stickstoffrest unbekannter Natur. Da Micko (62) Xantinkörper im Fleischextrakt nachgewiesen hat und Alloxanthin beispielsweise nach Abderhalden (63) durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt wird, so ist es möglich, daß diese Differenz zum Teil durch den Gehalt an Purinkörpern eine Erklärung findet. Wenn nach dem Obigen nicht erwartet werden kann, daß man durch die Phosphorwolframsäurefällung genau definierte Werte erhält, so besitzt man in ihr doch ein gutes und orientierendes Mittel zur Prüfung auf das Vorhandensein von etwaigen löslichen Proteinen bezw. deren weniger weit abgebauten Derivaten.

Tabelle III. Verteilung des Stickstoffs im Filtrat der Phosphorwolframsäurefällung von Fleischextraktlösungen.

Untersuchte Proben	1 Gesamtstickstoff im Phosphorwolframsäure-Filtrat (in % Gesamtstickstoff der wasserfreien Extrakte ausgedrückt) %	2 Ammoniakstickstoff im Phosphorwolframsäure-Filtrat %	3 Aminosäurenstickstoff im Phosphorwolframsäure-Filtrat %	4 Kreatinstickstoff %	5 Summe der Spalten 2, 3 u. 4 %	6 Differenz aus Spalte 1 u. 5 %
Selbsthergestellter Fleischbrühextrakt	2,81	0,20	0,23	1,57	2,00	0,81
Liebigs Fleischextrakt	2,95	0,09	0,16	0,65	0,90	2,05
Fleischextrakt Bullox	3,38	0,15	0,59	2,20	2,94	0,44
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	3,40	0,19	0,81	1,16	2,16	1,24
Fleischextrakt Marke Dampfschiff	2,48	0,33	0,83	1,31	2,47	0,01
Armours Fleischextrakt	2,69	0,20	0,54	0,29	1,03	1,66
Australischer Fleischextrakt	3,30	0,21	0,60	0,76	1,57	1,73
Fleischextrakt KDW	4,38	0,25	0,57	0,85	1,67	2,61
„ Ebi	3,40	0,22	0,54	0,87	1,68	1,72
„ Wertheim	3,33	0,14	0,55	0,52	1,21	2,12
„ Ochsenkopf	3,12	0,13	0,35	0,87	1,35	1,77
„ Scheuermann	3,35	0,13	0,33	0,91	1,37	1,98
„ Wilke	2,82	0,17	0,31	1,40	1,88	0,94
„ Pomona	2,41	0,16	0,32	0,80	1,28	1,13
„ Gerold	3,10	0,18	0,35	0,19	0,72	2,38
Pflanzenextrakt Viska	2,05	0,18	0,95	—	1,13	0,92
„ Viskon	1,84	0,40	0,58	—	0,98	0,86

In der Tabelle IV ist eine Übersicht über die Stickstoffverteilung im Phosphorwolframsäureniederschlag gegeben. Als Differenz erscheint hierbei der Betrag, der übrig bleibt, wenn von dem gesamten Stickstoff der Fällung der für diese berechnete Betrag an Ammoniak-, Aminosäuren- und Kreatininstickstoff in Abzug gebracht wird. Es gibt dieser Rest einen Aufschluß über die Menge derjenigen hochmolekularen Bestandteile, aus denen durch weitere Hydrolyse Ammoniak und Aminosäuren entstehen können. Es sind hierunter lösliches Protein oder diesem nahestehende Stoffe, wie Albumosen, Peptone und Peptide sowie Leimstoffe zu verstehen.

Tabelle IV. Verteilung des Stickstoffs im Niederschlag der Phosphorwolframsäurefällungen von Fleischextraktlösungen.

Untersuchte Proben	1	2	3	4	5	6
	Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff (in % Gesamtstickstoff der wasserfreien Extrakte ausgedrückt) %	Differenz aus Gesamt-Ammoniakstickstoff und Ammoniakstickstoff im Phosphorwolframsäure-Filtrat %	Differenz aus Gesamt-Aminosäurenstickstoff u. Aminosäurenstickstoff im Phosphorwolframsäure-Filtrat %	Kreatininstickstoff %	Summe der Spalten 2, 3 u. 4 %	Differenz Spalte 1 und 5 %
Selbsthergestellter Fleischextrakt	8,96	0,28	1,39	1,50	3,17	5,79
Liebigs Fleischextrakt	8,99	0,34	1,09	2,19	3,62	5,37
Fleischextrakt Bullox	8,29	0,33	0,81	0,35	1,59	6,70
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	7,84	0,31	0,60	2,22	3,13	4,71
Fleischextrakt Marke Dampfschiff	8,22	0,12	0,87	1,38	2,37	5,85
Armours Fleischextrakt	6,09	0,22	0,94	0,45	1,61	4,48
Australischer Fleischextrakt	7,68	0,25	0,72	1,33	2,30	5,38
Fleischextrakt KDW	6,43	0,19	0,95	0,53	1,67	4,76
" Ebi	5,64	0,17	0,90	1,02	2,09	3,55
" Wertheim	6,02	0,25	1,13	1,31	2,89	3,13
" Ochsenkopf	6,84	0,33	1,34	1,35	3,02	3,82
" Scheuermann	6,92	0,31	1,25	1,39	2,95	3,97
" Wilke	8,16	0,34	1,43	1,69	3,46	4,70
" Pomona	7,32	0,26	1,42	1,63	3,31	4,01
" Gerold	7,11	0,26	1,36	2,20	3,82	3,29
Pflanzenextrakt Viska	3,36	0,00	0,99	—	0,99	2,37
" Viskon	3,75	0,10	1,52	—	1,62	2,13

Aus Tabelle V (Seite 244) ist der Betrag zu entnehmen, der nach Vornahme der Hydrolyse in Form von Ammoniak- und Aminosäurenstickstoff nachgewiesen werden kann. Aus der Differenz (Spalte 5) ergibt sich, daß in einigen Fällen, wie auch bei den zuletzt angeführten Pflanzenextrakten der Gesamtstickstoff des Phosphorwolframsäureniederschlages sich praktisch vollständig nachweisen läßt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß in den anderen Fällen der nicht unbedeutende Stickstoffrest u. a. einen Bestandteil von Aminosäuren darstellt, der durch die angewandten Verfahren nicht erfaßt wird.

Die Tabelle VI (Seite 244) gibt diejenigen Stickstoffbeträge an, die sich von 100 Teilen Gesamtstickstoff der Extrakte unter Berücksichtigung der Hydrolyse nachweisen lassen.

In dem sich hierbei ergebenden Rest dürfte unter anderem besonders noch der Xanthinstickstoff enthalten sein, der nach den Micko (64) schen Versuchsergebnissen zu etwa 7% bis 8% angenommen werden darf.

Tabelle V. Gehalt der hydrolysierten Extrakte an Ammoniak- und Aminosäurenstickstoff.

Untersuchte Proben	1 Rest-Stickstoff (Vergl. Spalte 6 Tabelle IV) %	2 Abgebauter Amino-säurenstickstoff %	3 Abgebauter Ammoniak-stickstoff %	4 Summe der Spalten 2 und 3 %	5 Differenz aus Spalte 1 und 4 %
Selbsthergestellter Fleischbrühextrakt	5,79	2,62	0,62	3,24	2,55
Liebigs Fleischextrakt . .	5,37	2,56	0,60	3,16	2,21
Fleischextrakt Bullox . . .	6,70	2,36	0,50	2,86	3,84
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	4,71	3,70	0,64	4,34	0,37
Fleischextrakt Marke Dampfschiff	5,85	1,80	0,60	2,40	3,45
Armours Fleischextrakt . .	4,48	2,25	0,51	2,76	1,72
Australischer Fleischextrakt	5,38	2,63	0,56	3,19	2,19
Fleischextrakt KDW . . .	4,76	3,04	0,64	3,68	1,08
„ Ebi	3,55	2,80	0,56	3,36	0,19
„ Wertheim . .	3,13	2,23	0,58	2,81	0,32
„ Ochsenkopf .	3,82	2,68	0,53	3,21	0,61
„ Scheuermann	3,97	3,06	0,65	3,71	0,26
„ Wilke . . .	4,70	2,94	0,81	3,79	0,91
„ Pomona . .	4,01	2,76	0,87	3,63	0,38
„ Gerold . . .	3,29	2,29	0,85	3,14	0,15
Pflanzenextrakt Viska . . .	2,37	2,17	0,31	2,48	0,11
„ Viskon . .	2,13	1,99	0,30	2,29	0,16

Tabelle VI. Die Mengen der im Fleischextrakt nachweisbaren Stickstoffarten.

(auf 100 Teile Gesamtstickstoff berechnet)

Untersuchte Proben	Ammoniak-stickstoff %	Amino-säuren-stickstoff %	Kreatinin-stickstoff %	Kreatin-stickstoff %	Abbaubarer Stickstoff %	Rest %
Selbsthergestellter Fleischextrakt	4,08	13,85	12,74	13,34	27,53	28,46
Liebigs Fleischextrakt	3,60	10,47	18,33	5,03	26,47	36,10
Fleischextrakt Bullox	4,11	11,91	3,00	18,86	24,68	37,44
Neuer Fleischextrakt mit der Flagge	4,45	12,54	19,66	10,32	38,61	14,42
Fleischextrakt Marke Dampfschiff	4,30	16,00	13,00	12,24	22,45	32,31
Armours Fleischextrakt	5,01	18,00	5,12	3,30	40,48	28,09
Australischer Fleischextrakt . . .	4,19	12,02	12,11	6,92	29,05	35,71
Fleischextrakt Marke KDW . . .	4,07	14,06	4,90	8,79	34,04	34,14
„ Ebi	4,29	15,84	11,22	9,57	36,96	22,12
„ Wertheim	4,17	17,98	14,01	5 53	30,05	18,16
„ Ochsenkopf . . .	4,62	16,97	13,45	8,73	32,23	24,00
„ Scheuermann . .	4,28	15,39	10,27	8,86	36,12	25,18
„ Wilke	4,64	15,84	15,39	12,75	34,51	16,87
„ Pomona	4,14	17,17	16,09	7,89	35,83	18,88
„ Gerold	4,30	16,74	21,54	1,76	30,75	24,91
Pflanzenextrakt Viska	3,14	35,86	—	—	45,84	15,16
„ Viskon	8,94	37,57	—	—	40,96	12,53
Knochenbrühextrakt	1,61	50,74	—	—	8,92	38,73

III. Über das Vorkommen von leimähnlichen Stoffen in den Fleischextrakten und die Anwendung des Verfahrens von Striegel zu ihrer Ermittlung.

Die Frage über einen Gehalt der Fleischextrakte an Leim ist mehrfach behandelt und verschieden beantwortet worden. Sie ist von praktischer Bedeutung, insofern als Fleischextrakte durch künstlichen Zusatz von Leim oder leimähnlichen Stoffen verfälscht werden können. Nach den in der Literatur vorhandenen Untersuchungsergebnissen kann auf ein Vorkommen von leimähnlichen Bestandteilen in Fleischextrakten geschlossen werden. Bei der Untersuchung von Liebigs Fleischextrakt ist z. B. Karl Mays (65) zu dem Ergebnis gekommen, daß ein von ihm gefundener proteinartiger Körper Glutin sei, und zwar stellte er aus 1814 g Fleischextrakt 140 g Glutin her. Da die Untersuchung der selbsthergestellten Fleischextrakte zu einem anderen Ergebnis führte, kam er zu dem Schluß, daß je nach der Beschaffenheit des verwendeten Fleisches sowie der Herstellungsart der Extrakte aus den Bindegeweben leimartige Bestandteile in die Extrakte übergehen könnten. Micko (66) nimmt an, daß ein Teil der proteinartigen Stoffe Abkömmlingen des Leimes wie dem Acidglutin oder den Gelatosen nahe steht, eine ähnliche Auffassung wird von Lebbin (67) vertreten. Die Prüfung dieser Frage wurde von uns an küchenmäßig hergestellter Fleischbrühe vorgenommen, da wegen des bereits erwähnten Mangels an Material von einer Ausdehnung auf die im Handel vorkommenden Fleischextrakte abgesehen werden mußte. Die Prüfung geschah mittels der von Striegel (68) angegebenen Vorschrift zur Bestimmung von Leim in proteinhaltigen Futtermitteln. Nach dieser sind in den zu untersuchenden Leim- und Proteingemischen zuerst der Leim, die etwa vorhandenen Amide und die wasserlöslichen Proteine, wie Albumosen und Acidalbumine, durch Kochen mit verdünnter Weinsäure zu lösen und hernach in der Weise zu trennen, daß die Albumosen und Acidalbumine mit Kupfer- oder Zinksulfat ausgefällt werden, im Filtrat dieser Ausfällung wird sodann der Leim mit Tannin gefällt, während die Amide in Lösung bleiben. Im Filtrat bezw. im Niederschlag ist der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl zu ermitteln. Die bei der Nachprüfung des Verfahrens sowie bei der Untersuchung einiger Knochenbrühextrakte gemachten Erfahrungen seien zunächst mitgeteilt.

Die Nachprüfung erstreckte sich auf die Wertbestimmung des von uns verwandten Leimes sowie auf die Untersuchung von Lösungen, die Leim, Asparagin und Eialbumin enthielten. Die Ergebnisse sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

	Gesamtstickstoff	Leim- + Amidstickstoff nach Striegel		Leimstickstoff nach Striegel	
Leim	15,09 %	14,77 % (= 97,8 % des Gesamtstickstoffs)		13,42 % (= 88,2 % des Gesamtstickstoffs)	
		berechnet	gefunden	berechnet	gefunden
Gemenge von Leim, Asparagin und Eialbumin	15,65 %	13,95 % (89,13 % des Gesamtstickstoffs)	13,90 % (88,82 % des Gesamtstickstoffs)	7,68 % (49,07 % des Gesamtstickstoffs)	7,40 % (47,28 % des Gesamtstickstoffs)
Gemenge von Leim und Asparagin	16,92 %	16,72 % (98,82 % des Gesamtstickstoffs)	16,45 % (97,22 % des Gesamtstickstoffs)	6,75 % (39,93 % des Gesamtstickstoffs)	6,79 % (40,13 % des Gesamtstickstoffs)

Hiernach erweist sich bei den angewandten Lösungen das Striegelsche Verfahren als zuverlässig. Auch bei der Untersuchung von Knochenbrühextrakten kann das Verfahren wertvolle Dienste leisten.

Im folgenden sind die Ergebnisse mitgeteilt, die bei der Untersuchung von nicht durch Hydrolyse aufgeschlossenen sowie aufgeschlossenen Knochenbrühextrakten erhalten wurden. Da durch den Aufschluß der Knochenbrühe mittels Säure die ursprüngliche Leimsubstanz zu Aminosäure abgebaut wird, findet sich in diesen Erzeugnissen nur ein geringer Teil des Gesamtstickstoffs als Leimstickstoff wieder.

	Gesamt-stickstoff	Leim- + Amidstickstoff	Leimstickstoff
Knochenbrühextrakt aufgeschlossen	5,27 %	4,92 % (93,35 % des Gesamtstickstoffs)	0,12 % (2,27 % des Gesamtstickstoffs)
Knochenbrühpaste I aufgeschlossen	7,20 %	6,81 % (94,58 % des Gesamtstickstoffs)	0,37 % (3,75 % des Gesamtstickstoffs)
Knochenbrühpaste	7,00 %	6,71 % (95,85 % des Gesamtstickstoffs)	0,10 % (1,43 % des Gesamtstickstoffs)
Leimbrühe nicht aufgeschlossen	13,14 %	4,47 % (34,02 % des Gesamtstickstoffs)	2,41 % (18,34 % des Gesamtstickstoffs)

Die Prüfung der küchenmäßig hergestellten Fleischbrühe mittels des Striegelschen Verfahrens führten zu folgendem Ergebnis:

	Gesamt-stickstoff	Leim- + Amidstickstoff	Leimstickstoff
Selbst hergestellter Fleischextrakt Nr. 1	11,77 %	10,39 % (88,30 % des Gesamtstickstoffs)	2,14 % (18,20 % des Gesamtstickstoffs)
Selbst hergestellter Fleischextrakt Nr. 2	12,12 %	10,78 % (91,60 % des Gesamtstickstoffs)	2,47 % (21 % des Gesamtstickstoffs)

Der hierbei als Leim anzusprechende Bestandteil ist sehr hoch. Ein solcher Leim- (Gelatine-) Gehalt der Fleischbrühe würde dazu führen, daß beim Einengen der Brühe Gelatinierung eintreten müßte, was nicht der Fall ist. Nicht im Widerspruch mit dem Ergebnis steht indessen die vorerwähnte Auffassung von Mays, Micko sowie Lebbin, daß der aus dem Binnengewebe des Fleisches etwa stammende Leim sein Gelatinierungsvermögen eingebüßt, bezw. noch tiefer gehende Veränderungen erlitten hat. Es erscheint hiernach nicht ausgeschlossen, daß ein nicht unerheblicher Teil der im Fleischextrakt vorkommenden durch Hydrolyse abbaufähigen Bestandteile glutinartiger Natur ist, was für die Beurteilung von Fleischextrakten ins Gewicht fallen dürfte.

IV. Schlußfolgerungen.

Für die Beurteilung der Fleischextrakte lassen sich die vorstehend behandelten Analysenergebnisse wie folgt zusammenfassen.

Der Gehalt an Gesamtstickstoff schwankt zwischen 7,8 und 9,8 % und beträgt im Mittel 8,5 %. Hiervon sind etwa $^2/_3$ bis $^3/_4$ durch Phosphorwolframsäure fällbar.

Zu gleichen Ergebnissen führen die Untersuchungen von Lebbin (69). Wenn im Gegensatz hierzu J. König und A. Bömer (70) etwa $^9/_{10}$ und Baur und Barschall (71) gegen $^8/_{10}$ durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff in Liebigs Fleischextrakt fanden, so sei auf die bereits von Micko (72) erörterten Ursachen für die Verschiedenheit dieser Ergebnisse hingewiesen. Der Gehalt an Ammoniakstickstoff schwankt zwischen 0,33 und 0,41 %, der an Aminosäurenstickstoff zwischen 1,0 und 1,5 %; der Mittelwert beträgt 0,37 %, beziehungsweise 1,3 %. Durch die Hydrolyse wird, wie auch Micko (73) festgestellt hat, der Ammoniakstickstoff etwa verdoppelt, der Aminosäurenstickstoff verdoppelt bis verdreifacht. Der Gesamtkreatiningehalt bewegt sich zwischen 3 % und 6,7 %, sein Mittelwert beträgt 5,3 %. Micko (74) nennt die Zahl, die angibt, wieviel Teile Gesamtkreatininstickstoff auf Gesamtstickstoff kommen, die Gesamt-Kreatinin-Stickstoffzahl. Sie liegt nach ihm beim Fleischextrakt etwa um 20, was auch durch unsere Befunde bei dem größten Teil der Fleischextrakte bestätigt wird. Die Zahlen für Asche liegen zwischen 17 und 25 %, für Chlor, in Kochsalz ausgedrückt, zwischen 2 und 10 %, für Wasser zwischen 16 und 26 %. Die Pflanzenextrakte weisen einen bedeutend geringeren Gesamtstickstoffgehalt auf. Auch ist die Verteilung des Stickstoffs eine andere. Ihr Aminosäurengehalt ist im Verhältnis zum Gesamtstickstoff erheblich größer als bei den Fleischextrakten und nimmt durch die Hydrolyse nicht in dem Maße zu wie bei dem Fleischextrakt. Dies ist auch erklärlich, weil diese Erzeugnisse schon bei ihrer Herstellung einer Hydrolyse unterzogen worden sind. Kreatinin und Kreatin fehlen naturgemäß. Der Asche- und Chlorgehalt ist sehr hoch, was darauf zurückzuführen ist, daß die zum Abbau der Pflanzenproteine erforderliche Salzsäure durch den Zusatz von Alkali neutralisiert wird. Ähnlich verhalten sich in letzterer Beziehung auch die Knochenextrakte.

V. Zusammenfassung.

Die Verfahren zur Ermittlung der hauptsächlich in den Fleischextrakten vorkommenden Stickstoffverbindungen, wie Ammoniak, Aminosäuren, Kreatin und Kreatinin, durch Phosphorwolframsäure fällbare sowie glutinartige Bestandteile, wurden einer Nachprüfung unterzogen und unter Berücksichtigung der für ihre Handhabung gemachten Vorschläge ausgearbeitet. Gleichzeitig wurden Wasser- und Aschegehalt der im Handel erhältlichen Erzeugnisse ermittelt.

Charakteristisch für Fleischextrakt ist der Gehalt an Kreatin und Kreatinin. Der nach Überführen des Kreatins in Kreatinin sich ergebende „Gesamtkreatiningehalt“ ist für die Beurteilung von Fleischextrakten und dessen Ermittlung in anderen Lebensmitteln wertvoll.

Die Bestimmung des Aminosäurenstickstoffs durch das titrimetrische Formolverfahren und das gasometrische Salpetrigsäureverfahren führt zu übereinstimmenden Ergebnissen. Es empfiehlt sich, die beiden Verfahren nebeneinander anzuwenden.

Die Ermittlung des Aminosäurenstickstoffs sowohl im ursprünglichen Extrakt als auch nach vorangegangener Hydrolyse ergibt wertvolle Gesichtspunkte für die Beurteilung der Extrakte hinsichtlich ihres Gehaltes an abgebauten und abbaufähigen

Stickstoffverbindungen. Die Feststellung des in der Phosphorwolframsäurefällung enthaltenen Stickstoffs ist hierbei zweckmäßig.

Das Vorkommen von glutinartigen Bestandteilen im Fleischextrakt ist auch durch die vorstehenden Untersuchungen wahrscheinlich gemacht. Das Striegelsche Verfahren zur Bestimmung von Leim kann unter den gegebenen Voraussetzungen zur Ermittlung dieser Bestandteile angewandt werden.

Außer Fleischextrakten wurden einige Ersatzmittel, wie Pflanzenextrakte und Knochenbrühextrakte, nach den obigen Verfahren untersucht. Über die Unterschiede in ihrer Zusammensetzung gegenüber den Fleischextrakten ist Näheres bereits im vorigen Abschnitt zusammengefaßt.

Berlin, im August 1919.

Literaturverzeichnis.

1. Liebig, Über die Bestandteile der Flüssigkeiten des Fleisches. Annalen der Chemie Bd. 67 (1847), S. 257.

Kemmerich, Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Fleischbrühe, des Fleischextraktes und der Kalisalze des Fleisches. Pflügers Archiv Jahrg. 2 (1869), S. 49.

Bunge, Über die physiologische Wirkung der Fleischbrühe und der Kalisalze. Archiv für die gesamte Physiologie Jahrg. 4 (1871), S. 235.

Pettenkofer, Über Nahrungsmittel im allgemeinen und über den Wert des Fleischextraktes als Bestandteil der menschlichen Nahrung insbesondere. Annalen der Chemie Bd. 167 (1873), S. 271.

Lehmann, Über die Wirkung des Liebigschen Fleischextraktes mit besonderer Berücksichtigung seiner sogenannten Giftigkeit. Archiv für Hygiene 3. Bd. (1885), S. 449.

Sendtner, Fleischextrakte und Bouillonwürfel. Ebenda 6. Bd. (1887), S. 253.

Kemmerich, Studien über das Südamerikanische Fleischextrakt und Fleischpepton. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 18 (1894), S. 408.

Kutscher, Über Methoden zur Begutachtung des Fleischextraktes (1. Mitteilung). Ebenda Bd. 38 (1903), S. 101 (2. Mitteilung), ebenda Bd. 39 (1903), S. 126.

Gulewitsch und Admiradzibi, Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln (1. Mitteilung), ebenda Bd. 30 (1900), S. 565.

Derselbe und Krimberg (2. Mitteilung), ebenda Bd. 45 (1905), S. 326.

Micko, Über das Vorkommen von Monoaminosäuren im Fleischextrakt, ebenda Bd. 56 (1908), S. 180.

Jung, Über Fleischextrakt und Fleischpeptone. Chemiker Zeitung Bd. 24 (1900), S. 732.

Derselbe, Über Fleischextrakt, ebenda Bd. 25 (1901), S. 2.

Bremer, Fleischextrakt und Fleischpeptone, ebenda Bd. 24 (1900), S. 838.

Derselbe, Über Fleischextrakt, ebenda Bd. 25 (1901), S. 23.

Fürst, Hat Fleischextrakt Nährwert, ebenda Bd. 24 (1900), S. 994.

Eisengrün, Die chemischen Nährmittel der Neuzeit. Zeitschrift f. angewandte Chemie (1900), S. 262 und 263.

Stutzer, Zur Analyse der in Fleischextrakten und in Handelspeptonen vorkommenden stickstoffhaltigen Bestandteile. Zeitschrift f. analyt. Chemie Bd. 34 (1895), S. 372.

Derselbe, Die Bestimmung des Leimes in Fleischextrakten und Handelspeptonen, ebenda Bd. 34 (1895), S. 568.

König und Bömer, Über die Zusammensetzung des Fleischextraktes, ebenda Bd. 34 (1895), S. 548.

Micko, Vergleichende Untersuchungen von Fleischextrakten und deren Ersatzmitteln. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel 5. Jahrg. (1902), S. 193.

Micko, Untersuchung von Fleisch-, Hefen- nnd anderen Extrakten anf Xanthinkörper, ebenda Bd. 6 (1903), S. 781, Bd. 7 (1904), S. 257, Bd. 8 (1904), S. 225.

Derselbe, Hydrolyse des Fleischextraktes, ebenda Bd. 10 (1905), S. 393, Bd. 11 (1906), S. 705.

Kutscher, Über Liebigs Fleischextrakt, ebenda Bd. 10 (1905), S. 528, Bd. 11 (1906), S. 582.

Siegfried nnd Singerwald, Methode zur Untersnchnng von Fleischextrakten durch Bestimmnng des organischen Phosphors, ebenda Bd. 10 (1905), S. 521.

Micko, Hydrolyse der Albumosen des Fleischextraktes, ebenda Bd. 14 (1907), S. 253.

Derselbe, Zur Kenntnis des nicht aussalzbaren Teiles des Fleischextraktes, ebenda Bd. 15 (1908), S. 449.

Engeland, Über Liebigs Fleischextrakt, ebenda Bd. 16 (1909), S. 658.

Micko, Isolierung des Kreatinins aus Extrakten, ebenda Bd. 19 (1910), S. 426.

Derselbe, Über die Untersuchung von Fleischextrakten, ebenda Bd. 20 (1910), S. 537.

Derselbe, Über Speisewürzen und Bouillonwürfel, ebends Bd. 26 (1913), S. 321.

Derselbe, Über Bouillonwürfel, Speisewürzen und Fleischextrakt, ebenda Bd. 27 (1914), S. 489.

Jenkins, Meat Extracts and Meat Preparations. Rep. of the Connecticut agricult. Experiments Stations (1907/1908), S. 606—672. [Daselbst auch weitere Literaturangaben.]

J. A. Emery and R. R. Henley, Meat Extracts: Their Composition and Identification. Journal of Agriculture. Research Bd. 17 (1919). S. 1—17.

F. C. Cook, Partition of the Nitrogen of Plant, Yeast and Meat Extracts. The Journal of the Amer. Chem. Society Bd. 36 (1914), S. 1551.

Baur und Barschall, Beiträge zur Kenntnis des Fleischextraktes. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 24 (1906), S. 552.

Temistocle Jona, Sui composti azotati contenuti nell' estratto di carne. Pharmazeutisches und toxikologisches Institut der Universität Pavia (1911).

Derselbe, Crioscopia delli estratti di carne, ebenda.

Derselbe, Ricerca di dipeptidi nelle sostance estrattive del muscoli, ebenda.

König, Chemie der menschlichen Nahrungs- nnd Genußmittel Bd. 1, S. 91 und S. 1462, Nachtrag zu Bd. 1, S. 132 und 562, Bd. 2, S. 552 und 1475, Bd. 3, II. Teil, S. 122.

Beythien, Handbuch der Nahrungsmitteluntersuchung. Leipzig 1914. Bd. 1, S. 133.

Lebbin, Allgemeine Nahrungsmittelkunde (1911), S. 112.

Derselbe, Nene Untersuchungen über Fleischextrakt, Berlin (1915)[1]).

Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchsgegenständen für das Deutsche Reich (1897), Heft 1, S. 44.

Codex alimentarius austriacus 2. Bd., S. 345.

2. Fiehe und Stegmüller, Nachprüfung einiger wichtiger Verfahren zur Untersuchung des Honigs, Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 40 (1912), S. 308.

3. Micko, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Jahrg. 5 (1902), S. 194 und 195.

4. Beckurts, Methoden der Maßanalyse, S. 960.

5. Baur und Barschall, a. a. O. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesnndheitsamte Bd. 24 (1906), S. 561 u. 562.

6. Folin, Eine neue Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harne und in anderen tierischen Flüssigkeiten. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 37 (1902), S. 161.

7. Grünhut, Vortrag in der Hauptversammlnng des Vereins dentscher Nahrungsmittelchemiker in Berlin am 27. und 28. IX. 1918.

8. Jaffé, Über den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalen Harn erzeugt, und über eine neue Reaktion des Kreatinins. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 10 (1886), S. 399.

9. Folin, Beitrag zur Chemie des Kreatinins und Kreatins im Harne, ebenda Bd. 41 (1904), S. 223.

10. Baur und Barschall, a. a. O. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 24 (1906), S. 562.

[1]) Nach Abschluß der vorliegenden Untersuchungen erschienen.

11. Wieland, Über die Ermittlung des Fleischextraktes in Bouillonwürfeln. Konserven-Zeitung Bd. 14 (1913), S. 249.

12. Abderhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden Bd. 3, S. 788.

13. C. William Rose, Experimental Studies on Creatine and Creatinine. The Journal of Biol. Chemistry Bd. 12 (1912), S. 73.

14. Micko, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 19 (1910), S. 426.

15. Baur und Barschall, a. a. O. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 24 (1906), S. 564.

16. Emmett und Grindley, Further Studies on the Application of Folins Creatin and Creatinin, Method to Meats and Meat Extracts. The Journal of Biol. Chemistry Bd. 3 (1907), S. 491.

17. Micko, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 27 (1914), S. 697.

18. C. William Rose, a. a. O. The Journal of Biol. Chemistry Bd. 12 (1912), S. 73.

19. Baur und Barschall, a. a. O. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 24 (1906), S. 566.

20. Emil Fischer und Bergell, Über die β-Naphthalinsulfoderivate der Aminosäuren. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft Bd. 35, III (1902), S. 3779.

21. Bergell, Die Anwendung der β-Naphthalinsulfochloridmethode zur Erkennung der partiellen Hydrolyse von Fleischeiweiß. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd 89 (1914), S 465.

22. Erben, Zur Bestimmung der Aminosäuren im Harne, ebenda Bd. 43 (1904/05), S. 320.

23. Ignatowski, Über das Vorkommen von Aminosäuren im Harn, vorzugsweise bei Gicht, ebenda Bd. 42 (1904), S. 371.

24. Forssner, Über das Vorkommen von freien Aminosäuren im Harne und deren Nachweis, ebenda Bd. 47 (1906), S. 15.

25. Embden und Reese, Über die Gewinnung von Aminosäuren aus normalem Harn. Hofmeisters Beiträge Bd. 7 (1906), S. 411.

26. Sachsse und Kormann, Über eine Methode zur quantitativen Bestimmung einiger Amide mittels salpetriger Säure. Landwirtschaftl. Versuchsstationen Bd. 17 (1870), S. 95 u. 321.

27. Kern, Beiträge zur Bestimmung der Amidokörper, ebenda Bd. 24 (1880), S. 365.

28. Böhmer, Untersuchungen einiger Gemüsearten auf ihren Gehalt an Eiweißstoffen und nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen, ebenda Bd. 28 (1882).

29. Hans Meyer, Anleitung zur quantitativen Bestimmung organischer Atomgruppen, 1. Auflage (1897), S. 8.

30. Kreusler, Zur Bestimmung des Stickstoffs in Form von Amiden mittels salpetriger Säure. Landwirtschaftl. Versuchsstationen Bd. 31 (1885), S. 277.

31. Staněk, Über eine Verbesserung der Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in Aminosäuren. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 46 (1905), S. 263.

32. van Slyke, Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der aliphatischen Aminogruppen, einige Anwendungen derselben in der Chemie der Proteine, des Harns und der Enzyme. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft Bd. 43, III (1910), S. 3170. Nachtrag hierzu ebenda Bd. 44, II (1911), S. 1684. The Journal of Biol. Chemistry Bd. 9 (1911), S. 185 und Bd. 12 (1912), S. 275.

33. Derselbe und Levène, Gasometric Determination of free and conjugated Amino Acids in the Urine, ebenda Bd. 12 (1912), S. 301.

34. Derselbe, a. a. O. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft Bd. 43 (1910), S. 3173.

35. H. Euler, Zur Kenntnis der aliphatischen Amine. Annalen der Chemie Bd. 330 (1903), S. 280.

36. Schiff, Über Methylenasparagine, ebenda Bd. 310 (1899), S. 25.

36a. Derselbe, Trennung von Amin- und Säurefunktion in Lösungen von Aminosäuren und Eiweißkörpern mittels Formaldehyd, ebenda Bd. 319 (1901), S. 59 und 287, Bd. 325 (1902), S. 348.

37. Sörensen, Enzymstudien. Biochem. Zeitschrift Bd. 7 (1908), S. 45.

38. **Ronchèse**, Nouveau procédé de dosage de l'ammoniaque. Journal de pharmacie et de chimie Bd. 25 (1907), S. 611.

39. **Malfatti**, Eine klinische Methode zur Bestimmung des Ammoniaks im Harne. Zeitschrift f. analyt. Chemie Bd. 47 (1908), S. 273.

40. **Henriques**, Über quantitative Bestimmung der Aminosäuren im Harne. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 60 (1909), S. 1.

41. **Malfatti**, Die Formoltitration der Aminosäuren im Harne, ebenda Bd. 61 (1909), S. 499.

42. **Henriques** und **Sörensen**, Über die quantitative Bestimmung der Aminosäuren, Polypeptide und der Hippursäure im Harne durch Formoltitration (I. Mitteilung), ebenda Bd. 63 (1909), S. 27.

43. **Obermayer** und **Willheim**, Über formoltitrimetrische Untersuchungen an Eiweißkörpern. Biochemische Zeitschrift Bd. 38 (1912), S. 331.

44. **de Jager**, Beiträge zur Harnchemie. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 62 (1909), S. 333.

45. **Henriques** und **Sörensen**, Über die quantitative Bestimmung der Aminosäuren, Polypeptide und der Hippursäure im Harne durch Formoltitration. II. Mitteilung, ebenda Bd. 64 (1910), S. 120.

46. **Micko**, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 27 (1914), S. 493.

47. **Siegfried**, Über die Bindung der Kohlensäure durch amphotere Amidokörper. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 44 (1905), S. 85.

48. **Grünhut**, a. a. O.

49. **C. W. Cook**, a. a. O. The Journal of the Amer. Chem. Society Bd. 36 (1914), S. 1551.

50. **Abderhalden** und **Kramm**, Beitrag zur Kenntnis des Abbaus der Proteine im Darmkanal. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 77 (1912), S. 428.

51. **Abderhalden**, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden Bd. II, S. 470.

51a. Ebenda.

52. **Micko**, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 27 (1914), S. 711.

53. Ebenda S. 500.

54. **Bergell**, a. a. O. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 89 (1914), S. 465.

55. **Lebbin**, Neue Untersuchungen über Fleischextrakt S. 5 bis 8 und S. 26 u. 27.

56. **Micko**, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 27 (1914), S. 495.

57. **Abderhalden**, a. a. O. Bd. III, S. 782.

58. **Levene** und **Beatty**, Über die Fällbarkeit der Aminosäuren durch Phosphorwolframsäure. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 47 (1906), S. 149.

59. **Bohland**, Die Harnstoffanalyse von Bunsen mit besonderer Berücksichtigung der stickstoffhaltigen Extraktivstoffe und der Ammoniaksalze im Harn des gesunden und fiebernden Menschen. Pflügers Archiv Bd. 43 (1888), S. 31.

59a. **Gumlich**, Über die Ausscheidung des Stickstoffs im Harn. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 17 (1893), S. 13.

59b. **Salaskin** und **Saleski**, Über Harnstoffbestimmungen im Harn, ebenda Bd. 28 (1899), S. 73.

60. **Pfaundler**, Über ein Verfahren zur Bestimmung der Aminosäuren im Harn, ebenda Bd. 30 (1900), S. 79.

61. **Levene** und **Beatty**, a. a. O., ebenda Bd. 47 (1906), S. 149.

62. **Micko**, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Jahrg. 5 (1905), S. 193.

63. **Abderhalden**, a. a. O. Bd. III, S. 782.

64. **Micko**, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 27 (1914), S. 501.

65. **Mays**, Über einen Proteinkörper des Liebigschen Fleischextraktes. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 78 (1912), S. 37.

66. Micko, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 14 (1907), S. 298.

67. Lebbin, a. a. O. S. 49.

68. Striegel, Quantitative Trennung von Leim- und Eiweißstoffen. Chemiker Zeitung 1917, S. 313.

69. Lebbin, a. a. O. S. 27.

70. König und Bömer, a. a. O. Zeitschrift f. analyt. Chemie Bd. 34 (1895), S. 548.

71. Baur und Barschall, a. a. O. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 24 (1906), S. 552.

72. Micko, a. a. O. Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 56 (1908), S. 180.

73. Derselbe, a. a. O. Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 27 (1914), S. 502.

74. Derselbe, a. a. O., ebenda Bd. 26 (1913), S. 331.

Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife.

Von

Dr. rer. nat. E. Haller,
Ständigem Mitarbeiter im Reichsgesundheitsamt.

II. Mitteilung. Die Desinfektionswirkung rein wässeriger Kresollösungen [1].

Daß Kresole auch ohne Hilfe eines besonderen Lösungsmittels in nicht unerheblichem und für die meisten Desinfektionszwecke ausreichendem Maße in Wasser an sich löslich sind, ist durch Gruber [2]) bekannt geworden. Indes machen sich bei der Lösung von Rohkresol für sich in Wasser Schwierigkeiten geltend. Wenn eine gemessene Menge von Rohkresol mit einer zu ihrer Lösung ausreichenden Menge Wasser übergossen oder die betreffende Kresolmenge auf einmal dem Wasser zugegeben wird, so bleibt ein großer Teil des Kresols als zusammenhängende Bodenschicht in der Flüssigkeit und kann nur durch lang andauerndes Rühren oder Schütteln in Lösung gebracht werden. Verhältnismäßig am leichtesten und schnellsten löst sich von den drei isomeren Kresolen das ortho-Kresol, namentlich wenn es mit Wasser verflüssigt ist. Erheblich schlechter gelingt die Lösung beim para-Kresol und als sehr wenig löslich galt meta-Kresol, das sich nur langsam in wässerige Lösung überführen läßt.

Es lassen sich aber alle drei Kresole, auch das meta-Kresol, besser und schneller in Lösung bringen, wenn man den Kunstgriff benutzt, zunächst nur einen kleinen Teil, etwa $^1/_{10}$, der berechneten Menge in Wasser zu lösen, was leicht gelingt, und dann die übrige Menge unter Rühren oder Schütteln allmählich zuzusetzen. Die zuerst hergestellte schwache Kresollösung erleichtert nämlich die Bildung kleiner Tröpfchen aus den später zugesetzten Anteilen und durch deren große Oberfläche die Lösung. Selbstverständlich muß man das bei gewöhnlicher Temperatur feste ortho- und para-Kresol zuvor durch Erwärmen am besten unter Zusatz von 10 % destillierten Wassers verflüssigen. Die unter Wasserzusatz verflüssigten Kresole bilden dauernd eine homogene, aus Pipetten leicht auslaufende Flüssigkeit. Es gelingt auf diese Weise, auch von dem angeblich besonders schwer löslichen meta-Kresol klare 2 %ige Lösungen in 2—3 Minuten zu erhalten.

---

[1]) Teil I s. Bd. 51, S. 556, 1919.

[2]) Gruber, Archiv für Hygiene Bd. 17, 618, 1893.

Auf die angegebene Weise lassen sich, wenn auch nicht ganz so glatt und rasch, auch die technischen Gemische der drei isomeren Kresole, die sogenannten Rohkresole, in Wasser lösen. Bei Rohkresol nach der Vorschrift der 5. Arzneibuchausgabe ist die Lösung in Wasser allerdings durch den geringen Gehalt an ortho-Kresol erschwert, sie gelingt aber nach Vorlösung kleiner Mengen gleichfalls ohne besondere Schwierigkeit. Erheblich leichter ist dies der Fall bei den der Vorschrift der 4. Arzneibuchausgabe entsprechenden Rohkresolen, sowie bei dem von der Chemischen Fabrik auf Aktien (vormals E. Schering) in den Handel gebrachten sogenannten Trikresol, da diese beiden Präparate größere Mengen von ortho-Kresol enthalten. Auf diese verschiedene Löslichkeit der isomeren Kresole wird in einer späteren Arbeit noch des näheren eingegangen werden.

Die angegebene Art der Lösung der Kresole in Wasser eignet sich aber mehr für das Laboratorium, wo die Durchsichtigkeit der Glasgefäße die Kontrolle darüber gestattet, ob völlige Lösung erfolgt ist, oder ob noch umgerührt oder geschüttelt werden muß, für die Verhältnisse der Praxis, wo die desinfizierenden Lösungen meist in Eimern oder anderen undurchsichtigen Gefäßen angesetzt werden, kommt sie weniger in Betracht.

Es ist aber auch unter den Verhältnissen der Praxis leicht möglich, wässerige Kresollösungen selbst in großem Maßstab herzustellen, wenn man die in der ersten Mitteilung besprochenen Kresollaugen in Wasser löst und das Alkali mit irgend einer Säure oder einem sauren Salze bis zur völligen Neutralisation abstumpft. Man erhält dann je nach der angewandten Säure eine Lösung von Kresol und einem Neutralsalz in Wasser entsprechend den folgenden Reaktionen:



$$C_6H_4(CH_3)ONa + HCl = C_6H_4(CH_3)OH + NaCl$$



$$2C_6H_4(CH_3)ONa + H_2SO_4 = 2C_6H_4(CH_3)OH + Na_2SO_4$$



$$C_6H_4(CH_3)ONa + NaHSO_4 = C_6H_4(CH_3)OH + Na_2SO_4$$

Man verwendet dazu am besten eine aus gleichen Raumteilen 30%iger Natronlauge und Kresol hergestellte Kresollauge, die — wie früher gezeigt wurde — in allen Verhältnissen in Wasser klar löslich ist. Zu der durch Verdünnen daraus hergestellten Kresolalkali-Lösung, die über 2% Kresol enthalten kann, gibt man unter Rühren zunächst den größten Teil der berechneten oder erfahrungsgemäß gebrauchten Menge der Säure oder des sauren Salzes in wässeriger Lösung zu, mischt gut durch und läßt dann weiter von der Säurelösung unter stetem Umrühren und Prüfen mit Lackmuspapier solange zufließen, bis neutrale Reaktion in der Lösung erreicht ist. Statt freier Säure verwendet man noch besser das feste, daher leicht transportierbare, nicht hygroskopische, in Wasser leicht lösliche Natriumbisulfat, das als Abfallprodukt vieler technischer Prozesse sehr billig ist.

Das infolge der Neutralisation in der Lösung vorhandene Salz beeinträchtigt die Wirkung des Kresols in keiner Weise. Ist das angewandte Kresol rein, d. h. frei von Kohlenwasserstoffen, wie Naphthalin, und von höheren Phenolen, wie den Xylenolen, so sind die wässerigen aus den Kresollaugen durch Neutralisieren hergestellten Lösungen klar und durchsichtig. Bei einem Gehalt des Kresols an höheren Phenolen oder Kohlenwasserstoffen aber scheiden sich Öltropfen oder Flocken (Naphthalin) aus,

die die Lösung zunächst trüben, sich dann absetzen und bei größerer Menge einen schmierigen Bodensatz bilden. Bei der groben Desinfektion schadet diese Ausscheidung nicht, bei der Raum-, Möbel- und Wäschedesinfektion aber muß zur Vermeidung von Schädigungen auf Verwendung reinen Kresols geachtet werden.

Dieses Verfahren der Darstellung rein wässeriger Kresollösungen ist sehr billig und einfach und kommt namentlich dann in Frage, wenn Kresolwasser regelmäßig und in reichlicher Menge zur Desinfektion gebraucht wird, z. B. in Krankenhäusern, Seuchengehöften, bei Bahntransporten usw. Man setzt dann eine große Menge der Lösung auf einmal in einem Bottich oder einer gemauerten Grube an und entnimmt diesem Vorrat jeweils den erforderlichen Bedarf. Die Lösungen sind haltbar. Je nach der Verwendung kann man die Lösungen durch Zugabe einer zur Neutralisation unzureichenden Säuremenge alkalisch halten, z. B. für die Desinfektion von Exkrementen, oder durch einen Überschuß von Säure oder saurem Salz schwach sauer machen, z. B. für die Desinfektion von Viehtransportwagen, Rampen usw., wodurch die Desinfektionskraft des Kresols erhöht wird[1]). Für die Behandlung von Metallgegenständen, Stoffen, Möbeln und anderen empfindlichen Objekten sind natürlich nur neutrale Lösungen zu empfehlen.

Zur Herstellung solcher größerer Mengen verfährt man zweckmäßig in der Weise, daß man z. B. eine Grube oder einen Behälter von etwa 1000 Liter Inhalt zu ungefähr $^4/_5$ mit Wasser füllt, dann die ganze Menge Kresollauge (zur Herstellung einer 1 %igen Kresollösung 20 Liter) auf einmal hinzugibt und in der Flüssigkeit verteilt. Hierauf läßt man zunächst den größeren Teil der berechneten oder zur Neutralisation des Alkalis erfahrungsgemäß notwendigen Menge der zu benutzenden Säure oder des sauren Salzes zufließen und gibt dann weiterhin kleinere Mengen davon in kurzen Abständen unter ständigem Umrühren und unter wiederholter Prüfung der Reaktion der Flüssigkeit mit Lackmuspapier solange zu, bis die neutrale Reaktion erreicht ist. Ist dies der Fall, so füllt man die Grube oder den Behälter mit Wasser bis zu 1000 Liter auf.

Für die Herstellung kleiner Mengen von Kresollösung, etwa für den Gebrauch in einer zu desinfizierenden Wohnung, ist ein derartiges Vorgehen zu umständlich; hier eignen sich besser solche Kresolpräparate, die eine unmittelbare Lösung des Kresols in Wasser gestatten.

Bakteriologische Versuche mit wässerigen Kresollösungen.

Herstellung der Lösungen: Gelöst wurde das Kresol in Form von Kresollaugen, die aus gleichen Raumteilen Rohkresol DAB. 5 und 10-, 15-, 20-, 25- bezw. 30 %iger Natronlauge hergestellt waren. Die alkalischen Verdünnungen wurden dann mit verschiedenen Säuren (Salz-, Schwefel-, Salpeter-, Kohlensäure) oder mit Natriumbisulfat neutralisiert; die Reaktion wurde mit Lackmuspapier kontrolliert; der Phenolphthaleïnpunkt stimmt mit dem Lackmusneutralpunkt nicht genau überein; da die Kresole selbst schwache Säuren sind, tritt bei Phenolphthaleïn als Indikator schon bei einem geringeren Säurezusatz Entfärbung ein, während die Lösung gegen Lackmus noch

[1]) **Hailer**, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 33, 500. 1910.

alkalisch reagiert. Mit Phenolphthaleïn neutralisierte Kresollaugenverdünnungen wirken daher, wie ein Vergleich zeigte, etwas schwächer keimtötend, als mit Lackmas zur neutralen Reaktion gebrachte.

Geprüft wurden die Lösungen an acht verschiedenen Stämmen von Staphylokokken, die zum größeren Teil frisch aus Eiter herausgezüchtet und von besonders hoher Resistenz waren; 3%ige Phenollösung tötete zwei dieser Stämme erst in 50 Minuten ab. Ferner fanden als Testobjekte Verwendung verschiedene Stämme von Typhus-, Paratyphus B- und Ruhrbacillen, sowie ein Stamm von Bacterium pyocyaneum. Bei den Typhus- und Paratyphuskulturen handelte es sich gleichfalls um frisch isolierte Stämme. Die Testobjekte wurden feucht, an Battiststückchen adsorbiert, mit den Kresollösungen übergossen. Nach der Entnahme aus der desinfizierenden Lösung wurden die Battiststückchen mit schwachen Alkalilösungen (etwa 0,1%ige Kali- oder Natronlauge) abgespült und in Bouillon verimpft.

Aufgeführt seien zunächst einige Versuche mit rein wässerigen, also durch unmittelbares Lösen des Kresols in Wasser gewonnenen Lösungen von verschiedenen Handelskresolen (Tabelle I und II), sowie von den drei Kresolisomeren (Tabelle III bis V). Geprüft wurden jeweils mehrere Kresolkonzentrationen.

Von den Handelskresolen entsprachen drei im allgemeinen den Anforderungen der 5. Ausgabe des Deutschen Arzneibuchs, allerdings nicht alle vollkommen, denn ein Präparat wies einen nicht unerheblichen Naphthalingehalt auf. Ein viertes Rohkresol war den Ansprüchen der 4. Arzneibuchausgabe entsprechend zusammengesetzt, und schließlich ist das bekannte von der Chemischen Fabrik vorm. E. Schering hergestellte Trikresol bei den Versuchen mitbenutzt worden.

Tabelle I.

Einwirkung verschiedener Kresolpräparate des Handels in 0,5 und 1,0%iger wässeriger Lösung auf Staphylokokken.

Präparat	Kresolgehalt in Lösung %	Einwirkungszeit in Minuten									
		30	60	90	120	150	180	210	240	270	300
D A B 5, M . . .	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„ , K . . .	0,5	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—
„ , R . . .	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ph. G IV, R . .	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
Trikresol Schering	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Präparat	Kresolgehalt der Lösung %	Einwirkungszeit in Minuten											
		5	10	15	20	25	30	40	50	60	75	90	120
D A B 5, M . . .	1,0	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ , K . . .	1,0	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ , R . . .	1,0	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Ph. G IV, R . .	1,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Trikresol Schering	1,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—

Bei der Prüfung in $^1/_2$%iger Lösung — Tabelle I — erwiesen sich zwei der dem neuen Arzneibuch entsprechenden Präparate gegenüber feuchten Staphylokokken an Läppchen besser wirksam, wie das dritte und wie die beiden ortho-Kresol-haltigen Rohkresole. Dies war auch der Fall bei den 1%igen Lösungen, wobei das eine der der 5. Arzneibuchausgabe entsprechenden Rohkresole am schlechtesten wirkte. Allerdings waren die Unterschiede zwischen den verschiedenen Präparaten nicht sehr erheblich.

Das eine der beiden besser wirkenden Rohkresole (nach dem DAB. 5) wurde in mehreren Versuchsreihen und bei verschiedenen Konzentrationen in rein wässeriger Lösung auf sein Keimtötungsvermögen gegenüber Staphylokokken, die sich teils feucht, teils angetrocknet an Battistläppchen befanden, ferner Coli-, Typhus-, Paratyphus B- und Pyocyaneus-Bacillen geprüft — s. Tab. II (S. 258) —. Ganz niedere Konzentrationen (0,2, 0,4 und 0,5% in der 3. der durch Horizontalstriche in Tabelle II abgetrennten Versuchsreihen und 0,36% in Reihe 5 und 6) waren innerhalb der angewandten Versuchszeiten wirkungslos; dann steigerte sich die Wirkung über die 0,6 bezw. 0,75%- (Reihe 3) und 0,54 bezw. 0,72%igen Lösungen (Reihe 5 und 6) und erreichte das Maximum bei den Konzentrationen von 0,8 bezw. 1% (Reihe 3) und von 0,9 sowie 1,08% (Reihe 5 und 6). Die Wirkungssteigerung innerhalb dieser Konzentrationsbereiche ist eine ganz erhebliche; sie beträgt bei einer Konzentrationserhöhung um $^1/_3$ das Doppelte bis zehnfache in diesen Versuchsreihen. Die frisch isolierten Stämme von Bacterium coli, Typhus, Paratyphus erwiesen sich dabei gegen erhebliche Kresolkonzentrationen sehr resistent. Dagegen waren ältere Laboratoriumsstämme von Staphylokokken zum Teil verhältnismäßig viel empfindlicher. Sie wurden durch 1%ige Kresollösungen in mehreren Versuchen schon in 10 Minuten abgetötet. Angetrocknet erwies sich der Staphylokokkenstamm B empfindlicher als in feuchtem Zustand (Reihe 3).

Mit resistenteren Stämmen wurden dann auch die Konzentrationen über 1% Kresol geprüft. Es wurden dabei die Proben in Abständen von 5, meist aber von 10 Minuten entnommen und von kleineren Entnahmeintervallen abgesehen, weil es sich gezeigt hatte, daß gerade bei Desinfektionsversuchen mit Kresolen die Reihen nicht selten eine ziemliche Unregelmäßigkeit zeigen können, wodurch unter Umständen bei zu rascher Folge der einzelnen Entnahmen in noch kürzeren Zeitabständen die Beurteilung und die Übersichtlichkeit der Versuchsergebnisse beeinträchtigt und erschwert wird.

Besonders bemerkenswert erscheint nun bei diesen Versuchen die bei sehr resistenten Typhus- und Paratyphus-B-Stämmen (Reihe 2 in Tabelle II) gemachte Beobachtung, daß wohl bei Steigerung der Kresolkonzentration von 0,5 und 0,75 auf 1 und 1,25% eine ganz erhebliche Verkürzung der Abtötungszeit erzielt wurde, daß aber bei weiterer Konzentrationssteigerung diese Wirkungserhöhung weiterhin nicht mehr anhielt, sondern die höheren Konzentrationen von Kresol in rein wässerigen Lösungen wesentlich schlechter keimtötend wirkten, als die mittleren Konzentrationen von 1 und 1,25%. Die gleiche Beobachtung wurde auch bei den Staphylokokkenstämmen B und U in der Reihe 4 gemacht, bei denen das Maximum der Wirkung gleichfalls bei der Konzentration von 1% lag und eine Steigerung der Konzentration

Tabelle II.

Einwirkung eines dem Arzneibuch 5. Ausgabe entsprechenden Rohkresols in verschiedenen Konzentrationen auf verschiedene Stämme von Staphylokokken, Typhus-, Paratyphus B-, Pyocyaneus- und Colibacillen.

Gehalt der Lösung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
		10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
1,0	Staphylokokkus B	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
1,25	desgl.	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
1,5	desgl.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1,0	Staphylokokkus H	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
1,25	desgl.	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—
1,5	desgl.	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—
1,0	Staphylokokkus U	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1,25	desgl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,5	desgl.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,0	Typhus W	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1,25	desgl.	+	+	—	—	—	—	—		—	—
1,5	desgl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,0	Paratyphus B : R	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1,25	desgl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,5	desgl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1,0	Pyocyaneus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Gehalt der Lösung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten															
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	75	90	105	120
0,5	Typhus W	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
0,75	desgl.	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
1,0	desgl.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
1,25	desgl.	+	—	+	+	+	+	—	—								
1,5	desgl.	+	+	—	—		—	—	—								
2,0	desgl.	+	+	+	+	—	—	—	—								
0,5	Paratyphus B : R	+	+	+	+	+	+	+		+	—	—	—	+	—	—	—
0,75	desgl.	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	+	—
1,0	desgl.	+	+	+	+	+	+	—	—								
1,25	desgl.	+	+	+	—	—	—	—	—								
1,5	desgl.	+	—	+	+	+	—	+	—								
2,0	desgl.	+	—	+	—	+	+	—	—								
0,2	Typhus W	+	+	+	+	+	+										
0,4	desgl.	+	+	+	+	+	+										
0,6	desgl.	+	+	+	—	—	—										
0,8	desgl.	—	+	—	—	—	+										

Fortsetzung von Tabelle II.

Gehalt der Lösung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten															
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	75	90	105	120
0,2	Paratyphus B. R	+	+	+	+	+	+										
0,4	desgl.	+	+	+	+	+	+										
0,6	desgl.	+	—	+	+	+	—										
0,8	desgl.	—	—	—	—	—	—										
0,5	Staphylokokkus B feucht	+	+	+	+	+	+										
0,75	desgl.	+	+	+	+	—	—										
1,0	desgl.	+	—	—	—	—	—										
0,5	Staphylokokkus B trocken	+	+	+	+	+	+										
0,75	desgl.	+	—	—	—	—	—										
1,0	desgl.	—	—	—	—	—	—										

Gehalt der Lösung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten											
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
0,75	Staphylokokkus B	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,0	desgl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,5	desgl.	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2,25	desgl.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,75	Staphylokokkus U	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
1,0	desgl.	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,5	desgl.	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2,0	desgl.	+	+	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—
2,25	desgl.	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	—

Gehalt der Lösung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten																				in Stdn.		
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300	20	22	24
0,36	Staphylokokkus I														+	+	+	+	+	+				
0,54				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+											
0,72	desgl.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—												
0,9	desgl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—												
1,08	desgl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—														
0,36	Staphylokokkus A														+	+	+	+	+	+	+			
0,54							+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
0,72	desgl.	+	+	+	+	+	+																	
0,9	desgl.	+	+	—	—	—	—																	
1,08	desgl.	—	—	—	—	—	—																	
0,36	Staphylokokkus A														+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
0,54				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—						
0,72	desgl.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—									
0,9	desgl.	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—												
1,08	desgl.	—	—	—	—	—	—																	

Fortsetzung von Tabelle II.

Gehalt der Lösung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten 10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120	140	160	180	200	220	240	260	280	300	in Stdn. 20	22	24
0,36	Bacterium											+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+
0,54	coli A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—									
0,72	desgl.	+	—	+	—	—	—	—	—	—														
0,9	desgl.	—	—	—	—	—	—																	
1,08	desgl.	—	—	—	—	—	—																	
0,36	Bacterium											+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
0,54	coli B						+	—	+	+	+	—	—	—	—									
0,72	desgl.	—	—	—	—	—	—																	
0,90	desgl.	—	—	—	—	—	—																	
1,08	desgl.	—	—	—	—	—	—																	

auf 1,5, 2 und 2,25 % das Keimtötungsvermögen wieder erheblich herabsetzte. Auch diese Erscheinung, die in der Desinfektionsmittelprüfung nicht vereinzelt dasteht, wird in einer besonderen Arbeit noch des näheren besprochen werden.

Schließlich war es von Interesse, die drei isomeren Kresole einzeln in rein wässeriger Lösung auf ihr Keimtötungsvermögen gegen Staphylokokken zu prüfen. Derartige vergleichende Prüfungen sind schon früher in größerer Zahl vorgenommen worden, die Literatur darüber haben Schneider[1]) und neuerdings Ditthorn[2]) zusammengestellt. Ditthorn hat seiner Literaturübersicht einige neue Versuche hinzugefügt, nämlich je einen Versuch mit Staphylokokken, Bacterium coli und Bact. pyocyaneum in Wasser, Bouillon und Ascites. Die Versuchsergebnisse sind hinsichtlich der Bewertung der Wirkung der drei Isomeren nach der von Schneider und von Ditthorn angeführten Literatur ziemlich widersprechend, und lassen auch eine zuverlässige Beurteilung m. E. schon aus dem Grunde nicht zu, weil die bei den Versuchen angewandte Suspensionsmethode zur Vergleichung der keimtötenden Wirkung von Kresolen wenig geeignet ist.

In beiden Literaturzusammenstellungen ist aber nicht berücksichtigt, daß die Frage der keimtötenden Wirkung der drei isomeren Kresole längst in einwandsfreier Weise durch Versuche von Paul und Prall[3]) entschieden ist, wobei die von Paul und Krönig[4]) ausgearbeitete Granatenmethode Anwendung gefunden hatte, die am exaktesten einen von Fehlern und Ungenauigkeiten freien Vergleich verschiedener Desinfektionsmittel gestattet.

Paul und Prall fanden in vier Versuchen mit 0,54 %igen Lösungen der drei isomeren Kresole, daß das ortho-Kresol in wässeriger Lösung im Keimtötungsvermögen gegenüber Staphylokokken den beiden anderen Isomeren durchweg stark nachsteht

[1]) Schneider, Archiv f. Hyg. 67. 1. 1908.

[2]) Ditthorn, Zentralbl. f. Bakt. I Orig. 82, 483. 19.

[3]) Paul und Prall, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 26, 73, 1907.

[4]) Paul und Krönig, Zeitschr. f. physikal. Chem. 21, 422, 1896 und Zeitschr. f. Hyg. 25, 1, 1897.

und daß das meta-Kresol fast durchweg dem para-Kresol, zum Teil nicht unerheblich, überlegen ist. Von den vier Versuchen war nur einer insofern etwas abweichend ausgefallen, als sich bei ihm eine geringe Überlegenheit des para-Kresols gegenüber den beiden anderen Isomeren ergeben hatte. Es geht aber auch daraus hervor, daß man beim Arbeiten mit Kresolen nie aus einem Ergebnis, sondern nur nach wiederholten Versuchen oder bei Prüfung mit mehreren Stämmen endgültige Schlußfolgerungen ziehen darf, da, wie erwähnt, gerade bei Kresolen in viel höherem Grade als bei anderen Desinfektionsmitteln in den Versuchsreihen Unregelmäßigkeiten auftreten können.

Gegen die Versuche von Paul und Prall könnte nur vielleicht der Einwand erhoben werden, daß sie statt mit mehreren nur mit einem Staphylokokkenstamm und nur in einer Konzentration angestellt worden sind und daß unter Umständen andere Stämme und andere Konzentrationen ein anderes Ergebnis gezeigt haben könnten. Ich habe daher solche vergleichende Versuche über das Keimtötungsvermögen der drei Kresole noch mit vier verschiedenen Staphylokokkenstämme angestellt und dabei 0,5-, 0,75-, 1,0-, 1,25-, 1,5- und 2,0 %ige Lösungen der drei Kresole in Wasser verwendet — s. Tabelle III —. Die Ergebnisse der Tabelle III sind in den Tabellen IV und V übersichtlich zusammengestellt.

Die vier Staphylokokkenstämme wurden an Battiststückchen in feuchtem, zwei davon auch in angetrocknetem Zustand der Einwirkung der Kresollösungen ausgesetzt. Da die vergleichende Prüfung mit den verschiedenen Konzentrationen nicht an einem, sondern an drei aufeinander folgenden Tagen vorgenommen wurde, nämlich die Prüfung der Lösungen mit 2 und 1,5, 1,25 und 1, 075 und 0,5 % je an einem Tage, so ist die Widerstandsfähigkeit gegen die verschiedenen Konzentrationen bei dem gleichen Stamm nicht unmittelbar vergleichbar; denn die Resistenz der Staphylokokkenstämme gegen Kresol schwankt auch bei Verwendung des gleichen Nährmediums von Tag zu Tag, oft nicht unerheblich. So war hier in einzelnen Reihen der Stamm H von einer die anderen Stämme weit überragenden Resistenz gegen die Kresole (bei 1,0 %iger Lösung), an einem anderen Tage aber waren Stamm U und F ungleich widerstandsfähiger (bei 1,5 %iger Lösung). Da aber bei diesen Versuchen jede Konzentration gegenüber denselben Testobjekten gleichzeitig bei allen drei Kresolisomeren geprüft wurde, ist der Zweck der Versuche, das relative Keimtötungsvermögen des ortho-, meta- und para-Kresols festzustellen, durch sie doch erreicht worden.

Entgegen der meist zu beobachtenden größeren Empfindlichkeit angetrockneter Staphylokokken waren die angetrockneten Keime des Stammes U (in der Tabelle mit Ut bezeichnet) von größerer Widerstandsfähigkeit gegen die Kresollösungen als frische feuchte Kulturabschwemmung; dagegen war die Resistenz der angetrockneten Keime des Staphylokokkenstammes H (in der Tabelle Ht) in den meisten Versuchen geringer als die der frischen Testobjekte.

Wie eine Durchsicht der Tabelle IV ergibt, finden sich bei den hier zusammengestellten 29 vergleichbaren Versuchen die verschiedensten Fälle relativer Wirksamkeit der drei isomeren Kresole. In einem Fall (Ht bei 1,25 %iger Lösung) wirkt ortho-Kresol erheblich stärker als meta- und para-Kresol, in anderen Fällen wirkt es dem

Tabelle III.

Vergleichende Versuche über die Wirkung der drei Kresolisomeren bei verschiedenen Konzentrationen auf mehrere Staphylokokkenstämme.

Kresol	Gehalt der Lösung %	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten					
			330	360	390	420	450	480
ortho-	0,5	H	+	+	+	+	+	+
"		U	+	+	+	+	+	+
meta-	0,5	H	+	+	+	+	+	+
"		U	+	+	+	+	+	+
para-	0,5	H	+	+	+	+	+	+
"		U	+	+	+	+	+	+

Kresol	Gehalt der Lösung %	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten															
			10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	135	150	165	180
ortho-	0,75	U	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—		
"		Ut	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
"		Ht	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
"		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+		
"		I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+		
meta-	0,75	U	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
"		Ut	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—
"		Ht	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
"		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
"		I	+	+	+	—	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—		
para-	0,75	Ut	+	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	+	+	+		
"		U	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—	—		
"		Ht	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
"		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
"		I	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—		

Kresol	Gehalt der Lösung %	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten											
			5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
ortho-	1,0	U	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
"		Ut	+	+	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—
"		H	+	+	+	+	+	+	+	+		+		+
"		Ht	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
"		F	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	—
"		I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
meta-	1,0	U	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
"		Ut	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—	—
"		H	+	+	+	+	+	—	+	+		+		—
"		Ht	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"		F	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"		I	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—

Fortsetzung von Tabelle III.

Kresol	Gehalt der Lösung %	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten											
			5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
para-	1,0	U	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„		Ut	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
„		H	+	+	+	+	+	+	+	+		+		+
„		Ht	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—
„		F	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„		I	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Kresol	**Gehalt der Lösung %**	**Staphylokokkenstamm**	**Einwirkungszeit in Minuten**									
			5	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**35**	**40**	**50**	**60**
ortho-	**1,25**	**U**	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
„		**Ut**	+	+	+	+	+	+	+	+		
„		**H**	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„		**Ht**	+	+	—	—	—	—	—	—		
„		**F**	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—
„		**I**	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—
meta-	**1,25**	**U**	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„		**Ut**	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
„		**H**	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
„		**Ht**	—	—	+	—	—	—	—	—		
„		**F**	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„		**I**	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—
para-	**1,25**	**U**	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—
„		**Ut**	+	+	+	+	—	+	+	—		
„		**H**	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—
„		**Ht**	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
„		**F**	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„		**I**	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—

Kresol	Gehalt der Lösung %	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten													
			2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	25	30	35	40
ortho-	1,5	U	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+				
„		Ut	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
„		H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—				
„		Ht	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—				
„		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
„		I	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—				
meta-	1,5	U	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—				
„		Ut	+	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
„		H	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
„		Ht	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—				
„		F	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—				
„		I	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—				

Fortsetzung von Tabelle III.

Kresol	Gehalt der Lösung %	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten													
			2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	25	30	35	40
para-	1,5	U	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—				
"		Ut	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—
"		H	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
"		Ht	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—				
"		F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
"		I	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
ortho-	2,0	U	+	+	+	+	+									
"		Ut	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
"		H	+	+	+	+	+									
"		Ht	+	+	+	+	+									
"		F u. I	+	+	+	+	+									
meta-	2,0	U, H u. Ht	—	—	—	—	—									
"		Ut	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
"		F	+	+	—	+	—									
"		I	+	+	+	+	—									
para-	2,0	U	—	—	—	—	—									
"		Ut	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+	—	—	+	—
"		H	+	—	—	+	+									
"		F	+	+	+	+	+									
"		I	+	+	+	+	—									

meta-Kresol gleich und stärker als para-Kresol, in wieder anderen Versuchen erwies sich das para-Kresol den anderen Isomeren überlegen. So ergeben sich alle möglichen Anordnungen in der Wirksamkeit der drei Kresole und man versteht, wie die bisherigen Versuche zu so widersprechenden Ergebnissen kommen konnten, wenn sie sich mit **einer** Prüfung genügen ließen, um daraus allgemeine theoretische und praktische Schlußfolgerungen zu ziehen.

Zählt man in der Tabelle IV die Fälle zusammen, in denen meta-Kresol den anderen Isomeren überlegen ist, läßt aber die Versuche außerhalb der Berechnung, die gleiche Wirksamkeit des meta-Kresols mit einem anderen Isomeren zeigen, so

Tabelle

Zusammenstellung der Ergebnisse aus Tabelle III zum Vergleich der relativen

Konzentration	0,5%		0,75%					1,0%					
Staphylokokkenstamm	U	H	U	Ut	Ht	F	I	U	Ut	H	Ht	F	I
Präparat													Abtötungszeit
ortho-Kresol . .	> 480	> 480	90	150	135	> 150	> 150	30	45	> 60	30	60	60
meta-Kresol . .	> 480	> 480	60	110	180	> 180	80	30	45	60	15	20	30
para-Kresol . . .	> 480	> 480	> 150	135	110	> 150	120	25	45	> 60	45	30	30

ergibt sich, daß in 15 von 27 Versuchen das meta-Kresol stärker wirkte, als die beiden anderen Kresole (m $\rangle$ p, o). In 8 von 23 verwertbaren Reihen ist dabei die Reihenfolge hinsichtlich der Wirksamkeit m $\rangle$ p $\rangle$ o, in den meisten anderen Fällen wirkte das meta-Kresol mit einem der Isomeren gleich. In 13 von 23 Reihen erwies sich das ortho-Kresol schlechter wirksam als meta- und para-Kresol (o $\langle$ m, p), besser wirksam nur einmal. Para-Kresol hat bei 22 verwertbaren Reihen dreimal stärkere Wirkung als meta- und ortho-Kresol (p $\rangle$ o, m) und siebenmal schwächere als das ortho-Kresol (p $\langle$ o).

Zählt man die zur Abtötung nötigen Zeiten in den Horizontalreihen der Tabelle IV zusammen und berechnet daraus die Mittelzahl, so erhält man als durchschnittliche Abtötungszeit in den 15 hier verwertbaren Versuchen für meta-Kresol 36 Minuten, für para-Kresol 43 und für ortho-Kresol 48 Minuten. Dabei sind die zahlreichen Fälle außer Berechnung geblieben, bei denen die Abtötung durch ortho-Kresol in der angewandten Versuchszeit nicht erreicht wurde. Dieser Vergleich führt zu der Reihe m $\rangle$ p $\rangle$ o. Dieselbe Folge hinsichtlich der Wirksamkeit ergibt sich auch ungezwungen aus der Feststellung, daß ortho- und para-Kresol nur ein- bezw. dreimal, meta-Kresol dagegen 15 mal sich den anderen Kresolisomeren überlegen fanden und in fünf weiteren Fällen dem para-Kresol gleich wirkte, wobei noch in Rechnung zu ziehen ist, daß die in ziemlich großen Zeitabständen vorgenommenen Entnahmen die feineren Abstufungen nicht hervortreten lassen. Die Frage, welches Kresolisomere stärker auf Staphylokokken wirkt, dürfte durch die Versuche von Paul und Prall und diese Feststellungen dahin zu entscheiden sein, daß meta-Kresol meist stärker wirkt als ortho- und para-Kresol, daß ortho-Kresol den anderen Isomeren unterlegen ist und daß im allgemeinen eine Reihenfolge m $\rangle$ p $\rangle$ o anzunehmen sein wird.

Für die Feststellung der Wirkung der Konzentrationssteigerung auf das Keimtötungsvermögen der drei isomeren Kresole sind die Versuche mit feuchten Testobjekten weniger geeignet, weil die Versuchsreihen nicht am gleichen Tage sondern an drei aufeinander folgenden Tagen angestellt wurden. Dagegen waren die angegetrockneten Testobjekte (Ht und Ut) an allen Versuchstagen dieselben. Auch hier zeigte sich, daß bei ortho- und para-Kresol die Erhöhung der Konzentration von 1,0 über 1,25 und 1,5 auf 2% die keimtötende Wirkung der Lösungen durchaus nicht

IV.

Wirkung der drei Kresolisomeren auf verschiedene Staphylokokkenstämme.

1,25%						1,5%						2,0%						Durchschnitt
U	Ut	H	Ht	F	I	U	Ut	H	Ht	F	I	U	Ut	H	Ht	F	I	
in Minuten																		Min.
20	$\rangle$ 40	20	15	60	40	$\rangle$ 20	30	8	10	$\rangle$ 20	$\rangle$ 20	$\rangle$ 10	$\rangle$ 40	$\rangle$ 10	10	$\rangle$ 10	$\rangle$ 10	48
5	35	20	20	10	30	8	18	4	10	20	4	2	16	2	2	10	10	36
35	40	50	30	30	30	10	35	2	14	$\rangle$ 20	4	2	40	$\rangle$ 10	—	$\rangle$ 10	10	43

Tabelle V.

Zusammenstellung aus Tabelle III zum Vergleich der Wirkung verschiedener Konzentrationen der Kresolisomeren.

Kresolisomeres	%	Abtötung der Staphylokokkenstämme in Minuten					
		U	Ut	H	Ht	F	I
ortho-	0,5	> 480		> 480			
"	0,75	90	150		135	> 150	> 150
"	1,0	30	45	> 60	30	60	60
"	1,25	20	> 40	20	15	60	40
"	1,5	> 25	30	8	10	> 20	20
"	2,0	> 10	> 40	> 10	10	> 10	> 10
meta-	0,5	> 480		> 480			
"	0,75	60	110		180	> 180	120
"	1,0	30	45	60	15	20	30
"	1,25	5	> 40	20	15	60	40
"	1,5	8	18	4	10	20	4
"	2,0	2	16	2	2	10	10
para-	0,5	> 480		> 480			
"	0,75	125	> 150		110	> 150	120
"	1,0	25	45	> 60	45	30	30
"	1,25	35	40	50	30	30	40
"	1,5	10	35	2	14	> 20	4
"	2,0	2	40	> 10		> 10	10

in einem proportionalen Verhältnis erhöhte (Tabelle V). Nur bei meta-Kresol war die Wirkungserhöhung mit der Konzentrationssteigerung eine ausgesprochene. In allen Fällen standen 0,5- und 0,75%ige Lösungen stark hinter den 1%igen zurück. Jedenfalls aber weisen auch die Versuche mit feuchten Testobjekten und die Versuchsreihen mit ortho- und para-Kresol wieder auf die schon bei der Prüfung der Rohkresole gemachte Beobachtung hin, daß eine Konzentrationssteigerung über 1% hinaus keine entsprechende Erhöhung der Desinfektionswirkung bedingt.

Desinfektionswirkung der aus Kresollaugenverdünnungen durch Neutralisation hergestellten Lösungen.

Zunächst wurden aus Kresollaugen mit verschiedenem Alkaligehalt wässerige Lösungen hergestellt, von denen je die Hälfte mit Schwefelsäure neutralisiert, die andere unneutralisiert verwendet wurde; die neutralisierten und die alkalischen Lösungen wurden auf einen Gehalt von 1% Kresol verdünnt und diese 1% Kresol enthaltenden neutralen und alkalischen Flüssigkeiten gegenüber zwei Staphylokokkenstämmen geprüft, um den Einfluß 1. der Neutralisation und 2. der Zusammensetzung der ursprünglichen Kresollauge auf die Desinfektionskraft festzustellen — s. Tabelle VI —. Übereinstimmend mit den Versuchen über das Desinfektionsvermögen der Kresollaugen sank die keimtötende Wirkung der nicht neutralisierten Kresollösungen mit

Tabelle VI.

Einwirkung 1% Kresol enthaltender Verdünnungen von Kresollaugen ohne und nach Neutralisation mit Schwefelsäure bezw. Natriumbisulfat auf verschiedene Staphylokokkenstämme.

aus Kresollauge mit % NaOH	Neutralisiert mit	Staphylokokkenstamm	Einwirkungszeit in Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
5	Nicht neutralisiert	H	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—
		U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	Schwefelsäure	H	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		U	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—
7,5	nicht neutralisiert	H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		U	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	Schwefelsäure	H	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
		U	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	nicht neutralisiert	H	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—
		U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	Schwefelsäure	H	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
		U	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
12,5	nicht neutralisiert	H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Schwefelsäure	H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		U	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	nicht neutralisiert	H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Schwefelsäure	H	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
		U	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	reine wässerige Kresollösung	H	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—		U	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
10	Schwefelsäure	A	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		B	+	+	+	—	—	+	+	+	—	—
		C	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		F	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		T	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—
		U	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—
10	Natriumbisulfat	A	+	—	—	+	+	+	—	—	—	—
		B	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—
		C	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—
		F	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		T	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		U	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—

steigendem Gehalt der Lösungen an Alkali. Die Kresollaugen mit 12,5 und 15% Natriumhydroxyd, die also aus gleichen Teilen 25- bezw. 30%iger Natronlauge und Kresol hergestellt waren, töteten in 1%iger Lösung Staphylokokken in 120 Minuten nicht ab; auch die Wirkung der anderen alkalischen Lösungen war schwach.

Durch die Neutralisation stieg die bakterizide Wirkung der Lösungen stark, ein verstärkender oder schwächender Einfluß des steigenden Gehalts der Lösungen an

Natriumsulfat auf die keimtötende Kraft des Kresols war aber dabei nicht wahrzunehmen. Die 1 % Kresol enthaltenden Lösungen wirkten vielmehr unabhängig von ihrem verschiedenen Gehalt an Natriumsulfat unter sich gleich und etwa ebenso stark, wie die rein wässerigen 1 %igen Kresollösungen.

In einem anschließenden Versuche — s. Tabelle VI, 2. Teil — wurde in einer Reihe Schwefelsäure und in einer Parallelreihe eine kaltgesättigte Lösung von Natriumbisulfat zur Neutralisation der Kresollaugenverdünnung verwendet. In beiden Reihen war zwischen den auf einen Kresolgehalt von 1 % gebrachten Lösungen ein wesentlicher Unterschied in der Desinfektionswirkung gegenüber Staphylokokken nicht festzustellen.

Auch in einem weiteren ähnlichen Versuch — s. Tabelle VII — wurden aus Kresollaugen mit verschiedenem Alkaligehalt Verdünnungen hergestellt, mit Schwefelsaure neutralisiert und die Verdünnungen gegenüber vier Staphylokokken- und je zwei Typhus- und Paratyphusstämmen und einem Ruhr-Shiga- und Pyocyaneusstamm geprüft. Dabei war ebenfalls nicht festzustellen, daß etwa durch den einen verschiedenen Salzgehalt der Kresollösung bedingenden ursprünglichen Alkaligehalt der

Tabelle VII.

Einwirkung von Lösungen mit 1 % Kresolgehalt, hergestellt aus Kresollaugen mit verschiedenem Kresolgehalt durch Neutralisieren mit Schwefelsäure.

Kresol-lauge mit % NaOH	Kresol-gehalt der Verdünnung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
5	1,0	Staphylokokkus F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	—	+	—	—	+	+	—	—
		„ I	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ T	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
7,5	1,0	„ F	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		„ I	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
		„ T	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	1,0	„ F	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ I	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12,5	1,0	„ F	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—
		„ I	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ T	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
15	1,0	„ F	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
		„ I	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ T	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Fortsetzung von Tabelle VII.

Kresollauge mit % NaOH	Kresolgehalt der Verdünnung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten										
			5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	60
10	1,0	Typhus II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Paratyphus B:L	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ B:S	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Ruhr Sh.-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Pyocyaneus	+	—			—	—		—	—	—	—
15	1,0	Typhus II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Paratyphus B:L	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ B:S	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Ruhr Sh.-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Pyocyaneus	+	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—

Kresollauge mit % NaOH	Kresolgehalt der Verdünnung %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten										
			5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	60
		Zum Vergleich Kresolseife DAB 5.											
—	1,0	Staphylokokkus F	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	
		„ H	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	
		„ I	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		„ T	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	
—	1,0	Typhus II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Paratyphus B:L	—	—	+	—	+	—	—	—	+	+	—
		„ B:S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Ruhr Sh.-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Pyocyaneus	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—

Kresollauge ein Unterschied in der keimtötenden Kraft der Lösungen bewirkt wird. Die 1 % Kresol enthaltenden Lösungen verhielten sich hier etwa gleich wirksam, wie die 1 % Kresol enthaltenden Verdünnungen von Kresolseife (DAB 5). Je nachdem die alkalischen Lösungen mit Schwefelsäure oder mit Natriumbisulfat neutralisiert werden, enthalten die Verdünnungen mit 1 % Kresol bei der Neutralisation mit Säure im Höchstfall 0,6, bei der Neutralisation mit saurem Salz 1,2 % Natriumsulfat. Diese Verschiedenheit des Salzgehalts reichte danach nicht aus, um einen bemerkenswerten Einfluß auf die Desinfektionskraft des Kresols auszuüben.

Schließlich wurden — s. Tabelle VIII — Verdünnungen mit zwei verschiedenen Kresollaugen hergestellt, diese mit verschiedenen Säuren bezw. Natriumbisulfat neutralisiert (Schwefel-, Salz-, Salpeter- und Kohlensäure) und die Lösungen auf einen

Tabelle VIII.

Einfluß der zur Neutralisation verwandten Säure auf die Desinfektionswirkung 1%iger wässeriger Kresollösungen, die aus 10 und 15% Natriumhydroxyd enthaltenden Kresollaugen hergestellt sind.

Lösung aus	Kresol %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
Rohkresol DAB 5 „R“ gelöst in Wasser	1	Staphylokokkus B	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—
		„ T	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Phenol 3%ige Lösung		„ B	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
		„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	+	+	—	—	—	+	—	—
		„ T	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Kresollauge (10%ig) neutralisiert mit Schwefelsäure	1	„ B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
		„ T	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Natriumbisulfat	1	„ B	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
		„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—
		„ T	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Salzsäure	1	„ B	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
		„ C	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—
		„ H	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—
		„ T	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Kohlensäure	1	„ B	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+
		„ C	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
		„ H	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—
		„ T	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Salpetersäure	1	„ B	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
		„ C	+	—	—	+	—	+	—	—	—	—
		„ H	+	+	—	+	—	—	—	+	—	—
		„ T	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Lösung aus	Kresol %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten										
			5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	60
Kresollauge 10%ig, neutralisiert mit Schwefelsäure	1	Typhus II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Paratyphus B : L	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ B : S	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Pyocyaneus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Natriumbisulfat	1	Typhus II	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Paratyphus B : L	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ B : S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Pyocyaneus	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Salzsäure	1	Typhus II	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		„ IV	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Paratyphus B : L	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—
		„ B : S	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Pyocyaneus	—	+	+	+	—	+	—	+	+	+	—

Fortsetzung von Tabelle VIII.

Lösung aus	Kresol %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
Kresollauge (15%ig) neutralisiert mit Schwefelsäure	1	Staphylokokkus B	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—
		" C	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		" H	+	+	+	+	—	+	+	—	+	—
		" T	+	+	—	+	-	—	—	—	—	—
ebenso mit Natriumbisulfat	1	" B	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		" C	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
		" H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		" T	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Salzsäure	1	" B	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
		" C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		" H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		" T	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
ebenso mit Kohlensäure	1	" B	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—
		" C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		" H	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
		" T	+	+	—	—		—	—	—	—	—
ebenso mit Salpetersäure	1	" B	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
		" C	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
		" H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		" T	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—

Gehalt von 1% Kresol aufgefüllt. Bei der Prüfung dieser Lösungen gegenüber Staphylokokken und denselben Bakterienarten wie im vorhergehenden Versuch ergab sich wieder kein Unterschied in der Desinfektionswirkung, der auf den verschiedenen Salzgehalt infolge der Verwendung verschiedener Kresollaugen oder auf die zur Neutralisation verwendeten Säuren zurückzuführen gewesen wäre. Die Lösungen hatten etwa das gleiche Keimtötungsvermögen, wie rein wässerige 1%ige Kresollösungen und 3%ige Karbolsäurelösung. Nur in einem Falle war eine ziemliche Resistenz des Bact. pyoc. gegen die chlornatriumhaltige Kresollösung auffällig. Für die Praxis dürfte es also nach dem Gesamtausfall der Versuche gleichgültig sein, mit welcher Säure die Kresollaugenverdünnung neutralisiert wird. Im allgemeinen wird sich daher die Verwendung des billigen und leicht transportablen Natriumbisulfats empfehlen.

Eine große Zahl weiterer Versuche mit neutralisierten Kresollaugenverdünnungen hatte das gleiche Ergebnis. Auf ihre genauere Anführung und Besprechung kann daher verzichtet werden.

Da seitens der Heeresverwaltung für gewisse Zwecke auch die Anwendung erwärmter Kresollösungen zur Desinfektion und Entlausung in Betracht gezogen war, wurde in weiteren Versuchen dann der Einfluß der Erwärmung auf die Erhöhung der Desinfektionskraft des Kresols geprüft. Festgestellt wurden dabei diejenigen Kresolkonzentrationen, welche bei 30, 40 und 50° C etwa die gleiche keimtötende Wirkung wie eine 1%ige Kresollösung bei 20° ausüben und somit die Abtötung resistenter Staphylokokkenstämme in längstens 50—60 Minuten bewirken. Die Versuche wurden in einem Flüssigkeitsthermostaten ausgeführt, der durch einen verstellbaren

Tabelle IX.

Wirkung verschiedener Kresolkonzentrationen bei etwa 30°.

Konzentration der Lösung an Kresol %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
		10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
	Temperatur des Bades 30°, der desinfizierenden Lösung 29,5°.										
0,6	Staphylokokkus H	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ B	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
	„ T	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
0,7	„ H	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ B	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ T	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–
0,8	„ H	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ B	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ T	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Temperatur des Bades 31°, in den Schälchen 30,5°.										
0,5	Staphylokokkus B	+	+	–	+	–	–	+	–	–	–
	„ C	+	+	+	+	–	+	–	+	–	–
	„ U	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
0,6	„ B	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ C.	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–
	„ U	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–
0,75	„ B	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ U	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Temperatur des Bades 30,5°, in den Schälchen 30°.										
0,5	Staphylokokkus B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	„ C	+	+	+	+	+	–	+	–	–	–
	„ U	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
0,6	„ B	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	„ C	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ U	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
0,75	„ B	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ C	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	„ U	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
0,25	Typhus II	+	+	+	+	+	+				
	Paratyphus B:L	+	+	+	+	+	+				
	Pyocyaneus	+	+	+	+	+	+				
0,4	Typhus II	+	–	+	–	–	–				
	Paratyphus B:L	+	–	–	–	–	–				
	Pyocyaneus	–	–	–	–	–	–				
0,5	Typhus II	+	+	+	–	–	–				
	Paratyphus B:L	+	–	+	–	–	–				
	Pyocyaneus	–	–	–	–		–				

Tabelle X.

Wirkung verschiedener Kresolkonzentrationen bei etwa 40°.

Konzentration der Lösung an Kresol %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
		10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
Temperatur des Bades 40,5°, der desinfizierenden Flüssigkeit 39,5°.											
0,4	Staphylokokkus B	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—
	„ T	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—
	„ H	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	„ U	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—
0,5	„ B	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—
	„ T	+	+	—	—	+	—	+	+	—	—
	„ H	+	+	+	—	+	+	—	—	—	—
	„ U	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—
0,5	„ B	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—
(Kresol rein	„ T	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
wässerige	„ H	+	+	+	+	—	—	—	—	—	.
Lösung)	„ U	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,4	Staphylokokkus B	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	„ C	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
	„ H	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5	„ B	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—
	„ C	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ H	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,6	„ B	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—
	„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ H	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,4	Staphylokokkus B	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	„ C	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ U	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5	„ B	+	+	—	+	—	—	+	—	—	—
	„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ U	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,6	„ B	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ C	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ U	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,25	Typhus II	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	Paratyphus B : L	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	Pyocyaneus	+	—	+	—	—	—	+	—	—	—
0,25	Typhus II	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—
(Kresol, rein	Paratyphus B : L	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
wässerige Lösung)	Pyocyaneus	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Thermoregulator auf der gewünschten Temperatur gehalten wurde. Die Lösungen wurden vor dem Übergießen über die Testobjekte zunächst in Flaschen auf die betreffende Temperatur vorgewärmt. Die Behandlung der infizierten Battistläppchen mit den Lösungen geschah in großen Doppelschalen von je etwa 200 ccm Inhalt. Die Änderung der Konzentration durch Verdunstung von Flüssigkeit wurde durch Verwendung von großen Mengen

Tabelle XI.

Wirkung verschiedener Kresolkonzentrationen bei etwa 50°.

Konzentration der Lösung an Kresol %	Testobjekt	Einwirkungszeit in Minuten									
		10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
Temperatur des Bades 49,5°, der desinfizierenden Lösungen 48,5°.											
0,1	Staphylokokkus H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	„ U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,2	„ H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	„ U	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,3	„ H	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
	„ U	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
0,4	„ H	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ U	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,3 (Kresol, rein wässerige Lösung)	„ H	+	+	—	+	—	+	+	+	+	—
	„ U	+	+	—	—	+	+	—	—	+	—
Temperatur des Bades 49°, in den Schalen 47°.											
0,25	Staphylokokkus B	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
	„ T	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
	„ H	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	„ U	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
0,3	„ B	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
	„ T	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	„ H	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	„ U	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
0,3 (Kresol, rein wässerige Lösung)	„ B	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	„ T	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—
	„ H	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ U	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

der Lösung möglichst ausgeschlossen, und auch die Verdampfung selbst wurde durch Verschluß der Schale mit einem aufgeschliffenen Deckel nach Möglichkeit vermieden. Die Lösungen wurden hergestellt aus 15% Natriumhydroxyd enthaltenden Kresollaugen und mit Natriumbisulfat neutralisiert; in einzelnen Fällen wurden auch gleichzeitig rein wässerige Kresollösungen auf ihre keimtötende Kraft geprüft. Die Temperatur der desinfizierenden Lösungen in den Schalen war jeweils etwas tiefer als die des Wasserbads.

Bei 30° — s. Tabelle IX — wurde mit 0,5% Kresol enthaltenden Lösungen in einem Fall die gewünschte Wirkung nicht erzielt, dagegen gaben Verdünnungen mit 0,6% Kresol in drei Versuchen gute Ergebnisse gegenüber resistenten Staphylokokken. Typhus-, Paratyphus B- und Pyocyaneus-Bacillen wurden durch 0,25% Kresol enthaltende Lösungen nicht in 60 Minuten abgetötet, dagegen waren 0,4%ige Lösungen gut wirksam.

Bei etwa 40° — s. Tabelle X — war ein Kresolgehalt der Lösung von 0,4% in mehreren Reihen nicht ausreichend zur Abtötung der Staphylokokken innerhalb von 60 Minuten, dagegen genügten 0,5% in der festgesetzten Zeit fast durchweg. Gegenüber den genannten anderen Bakterienarten waren schon 0,25% Kresol bei dieser Temperatur ausreichend wirksam.

Bei etwa 50° — s. Tabelle XI — wurde durch 0,3% Kresol enthaltende Lösungen die gewünschte Wirkung gegenüber Staphylokokken erreicht. Schwächere Lösungen waren nicht ausreichend wirksam.

Die Abtötungszeiten aus den Versuchen bei diesen verschiedenen Temperaturen und bei Zimmertemperatur sind in Tabelle XII (Seite 276 u. 277) zusammengestellt. Als Abtötungszeit ist darin diejenige Zeit angegeben, bei der nach einer regelmäßigen Reihe positiver Entnahmen kein Wachstum mehr eintrat; erfolgte ausnahmsweise, nachdem die vorhergehenden Entnahmen Abtötung ergeben hatten, nach längerer Einwirkungszeit doch noch einmal Wachstum, so ist dieser Ausnahmebefund in Klammer beigefügt. Die stark schwankende Resistenz desselben Staphylokokkenstammes an wenig auseinander liegenden Tagen tritt in diesen Versuchsreihen besonders in Erscheinung.

Wenn man berücksichtigt, daß auch 0,75%ige Kresollösungen bei Zimmertemperatur in vielen Fällen noch ein befriedigendes Abtötungsvermögen gegenüber Staphylokokken hatten, so erscheint die Wirkung der Temperatursteigerung auf die zur Abtötung erforderlichen Konzentrationen von Kresol nicht sehr erheblich. Zur Erzielung der gleichen Wirkung gegenüber Staphylokokken konnte nämlich:

bei einer Temperatursteigerung um 10° (von 20° auf 30°) die Konzentration um nur etwa 1/3,
„ „ „ um 20° (von 20° auf 40°) nur auf die Hälfte,
„ „ „ um 30° (von 20° auf 50°) nur um 2/3 vermindert worden.

Zusammenfassung.

Wässerige neutrale Kresollösungen mit einem Kresolgehalt bis zu 2% werden durch Lösen von Kresollauge in Wasser und Neutralisieren dieser alkalischen Flüssigkeit mit Säure oder saurem Salz erhalten. Dieses Verfahren empfiehlt sich der Einfachheit und Billigkeit wegen namentlich für Anstalten, in denen große Mengen von Kresollösung ständig gebraucht werden (Krankenhäuser, Seuchengehöfte, Viehtransportanstalten); dagegen erscheint es nicht zweckmäßig, daß die desinfizierenden Lösungen auf die angegebene Weise durch den Desinfektor in den zu behandelnden Wohnungen hergestellt werden.

Nach den mitgeteilten Versuchen scheint für die üblichen Zwecke ein Kresolgehalt der Lösungen von 1% auszureichen, und eine Steigerung dieser Konzentration die Desinfektionswirkung nicht entsprechend zu verstärken. Der geringe Salzgehalt der aus Kresollaugenverdünnungen durch Neutralisieren hergestellten Lösungen bewirkt

Tabelle

Wirkung verschiedener Kresolkonzentrationen bei verschiedenen

Testobjekt	Abtötung in								
	etwa 30°							etwa 40°	
	Kresollösung (aus Kresollauge mit Bisulfat neutralisiert)							Kresollösung rein wässerig	
	0,25 %	0,4 %	0,5 %	0,6 %	0,7 %	0,75 %	0,8 %	0,25 %	0,5 %
Staphylokokkus B			90 > 120	40 20 50	20	30 10	20		75
„ C			105 90	20 20		10 20			
„ H				20	10		10		50
„ T				40	40		20		75
„ U			40 50	60 20		10 20			20
Typhus II	> 60	40						75	
Paratyphus B : L	> 60	20						50	
Pyocyaneus	> 60	10						40	

weder eine Abschwächung noch eine erkennbare Verstärkung der Desinfektionswirkung. Diese Lösungen wirken etwa gleich stark wie solche, die durch unmittelbares Auflösen des Kresols in Wasser gewonnen sind.

Bei Temperatursteigerung kann der Kresolgehalt der Lösung herabgesetzt werden und zwar bei einer Temperatur von 30° auf 0,6%, bei 40° auf 0,5%, bei 50° auf 0,3%. Diese Lösungen wirken dann bei den angegebenen Temperaturen etwa ebenso stark, wie 1% Kresol enthaltende bei Zimmertemperatur.

XII.

Temperaturen (Zusammenstellung der Tabellen IX—XI).

Minuten bei

etwa 40°				etwa 50°						etwa 20°
Kresollösung (aus Kresollauge neutralisiert)				rein wässerig	Kresollösung (aus Kresollauge neutralisiert)					Kresollösung (aus Kresollauge neutralisiert)
0,25 %	0,4 %	0,5 %	0,6 %	0,3 %	0,1 %	0,2 %	0,25 %	0,3 %	0,4 %	1,0 %
	105	40 (120)	75	40			> 120	60		40, 60, 20
	90	90	20							
	90	90								
	50	20	20							20, 60, 60
	30	20	20							
	60	75	20	120	> 120	> 120	60	50	20	105, 40
	30	20		20				40		
	120	105		50			75	60		50, 30, 50
	90	50	10	120	> 120	> 120	50	40	10	50
	30	10		10				30		
30										10
40										20
40 (90)										10

Versuche mit den drei isomeren Kresolen ergaben, daß in rein wässeriger Lösung in den meisten Fällen dem ortho-Kresol die schwächste, dem meta-Kresol die stärkste Desinfektionswirkung zukommt.

Das Optimum der Wirkung gegenüber Staphylokokken und Bakterien liegt bei rein wässerigen Lösungen von Rohkresol bei einer Konzentration von 1,0—1,25 %. Stärkere Lösungen wirken im Verhältnis nicht stärker, in vielen Fällen schwächer als diese.

Vergleichende Versuche über die Einwirkung chemischer Mittel auf Kleiderläuse.

Von

Dr. rer. nat. E. Haller,

Ständigem Mitarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Für die Vernichtung und die Bekämpfung der Kleiderläuse kommen neben den physikalischen Mitteln (trockene und feuchte Hitze) auch chemische Stoffe in Betracht und zwar sowohl in gelöstem Zustande als auch in Gas- oder in Dampfform.

Von Gasen sind es die schweflige Säure und die Blausäure, die zur Entlausung von Räumen und deren Inhalt und, in besonderen Kammern, auch zur Befreiung von Kleidungs-, Wäsche-Ausrüstungsstücken und ähnlichem von Läusen und ihrer Brut ausgedehnte Anwendung gefunden haben. Die Verwendung von Ausgasungen ist aber beschränkt durch die Gefährlichkeit der Blausäure für alle Lebewesen und durch die Schädlichkeit der schwefligen Säure für manche Gegenstände, namentlich wenn diese in feuchtem Zustand behandelt werden müssen. Sie ist ferner, ebenso wie die der physikalischen Mittel, gebunden an das Vorhandensein gewisser Einrichtungen, wie abdichtbare Zimmer oder Kammern und auch an besondere Apparate für die Entwicklung der Gase.

Es ist indessen häufig erwünscht, einzelne Möbel- oder Kleidungs- und Wäschestücke ohne derartige besondere Vorkehrungen von Läusen zu befreien und namentlich wäre es wertvoll, den Menschen und seine Kleidung auch ohne daß die Bekleidungs- und Ausrüstungsstücke wiederholt der Erhitzung oder der Behandlung mit Gasen unterzogen werden müssen, dauernd von Läusen frei halten zu können. Hauptsächlich im Hinblick auf dieses Problem der persönlichen Prophylaxe waren von mir im Frühjahr 1915 im Reichsgesundheitsamte ausgedehnte Versuche zunächst in der Richtung aufgenommen worden, inwieweit sich vielleicht dieses Ziel durch die Behandlung der Läuse mit Dämpfen fester oder flüssiger chemischer Verbindungen erreichen lassen würde. Daneben habe ich auch Versuche über die Wirksamkeit von Lösungen chemischer Stoffe (Teil II) ausgeführt.

Bei den ersterwähnten Untersuchungen wurden die in Betracht kommenden Verbindungen in systematischer Weise durchgeprüft, um dadurch, soweit dies in Laboratoriumsversuchen überhaupt möglich ist, die experimentelle Grundlage für eine etwaige praktische Ausprobung einzelner Mittel zu gewinnen.

Es war deshalb auch eine Versuchstechnik angewandt worden, welche die besonderen Bedingungen der Einwirkung von chemischen Mitteln am Körper nach Möglichkeit berücksichtigte.

Wenn nun auch diese Versuche, ein Mittel zu finden, welches eine rasche und sichere Vernichtung frisch angekrochener Läuse und damit die Möglichkeit persönlichen Schutzes gewährleistet, nicht zu dem gewünschten Ergebnis in praktischer Hinsicht geführt haben, so soll darüber doch des Näheren berichtet werden, da bei der Prüfung der so verschiedenartigen Stoffe eine Reihe von biologisch interessanten Beobachtungen erhoben wurde, und aus den auf ziemlich breiter Grundlage durchgeführten Versuchen auch Fingerzeige für die Bekämpfung anderer Schädlinge unter den Insekten gewonnen werden können.

Das Läusematerial für die Versuche wurde mir in entgegenkommender Weise aus dem Berliner Asylverein für Obdachlose geliefert; besonders seinem Hausinspektor Herrn Heymann bin ich zu Dank für die freundliche Unterstützung verbunden.

Der größeren Resistenz frisch gesättigter Läuse wegen ist es an sich wünschenswert, das Versuchsmaterial unmittelbar nach der Entnahme vom menschlichen Körper zu verarbeiten. Dies war mir unter den damaligen Umständen nicht möglich; die Läuse kamen frühestens 15 Stunden, nachdem die verlausten Kleidungsstücke abgelegt waren, in die Versuche, waren aber in der Zwischenzeit im Eisschrank aufbewahrt worden. Da in den meisten Versuchen nicht die absoluten Abtötungszeiten ermittelt, sondern eine Reihe chemischer Verbindungen vergleichsweise auf ihre schnelle oder langsamere, vorübergehende oder längere Zeit anhaltende Wirkung geprüft werden sollten, war eine Abschwächung der Widerstandsfähigkeit nicht störend.

In einigen Versuchen mit Lösungen von Kresolpräparaten indessen, bei denen möglichst einwandfrei festgestellt werden sollte, in welcher Zeit die Läuse mit ihrer Brut durch die Behandlung zugrunde gehen, war ich durch das gütige Entgegenkommen von Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. Neufeld in der Lage, ganz frisch vom menschlichen Körper abgenommene Läuse zu verwenden. Eine bedeutend größere Resistenz dieser Tiere im Vergleich mit meinem gewöhnlichen Versuchsmaterial, wie sie nach gewissen Angaben der Literatur zu erwarten war, konnte ich aber nicht feststellen.

I. Einwirkung der Dämpfe fester und flüssiger chemischer Stoffe bei Zimmertemperatur auf Läuse.

Ziel der Feststellungen, durch welche Dämpfe chemischer Stoffe unter den angewandten Versuchsbedingungen bei Zimmertemperatur die Abtötung der Läuse zu bewirken sei, war die Lösung folgender Aufgaben der Läusebekämpfung:

1. Der Fleckfieberinfektion unmittelbar ausgesetzte Personen von Läusen in der Weise zu bewahren, daß die Tiere von dem Ankriechen ferngehalten oder unmittelbar nach dem Ankriechen und bevor sie noch zum Stich gekommen sind, betäubt und abgetötet werden (Prophylaxe bei Fleckfiebergefahr).

2. Der Verlausung während längerer Zeit ausgesetzte Personen vor der dauernden Verlausung durch einmalige oder öftere Anwendung von chemischen Mitteln zu bewahren (Prophylaxe gegen Verlausung).

3. Verlauste Personen, die keine Gelegenheit zur Entlausung in Anstalten oder zum Wäsche- und Kleidungswechsel haben, ohne einen solchen von Läusen zu befreien (Behandlung verlauster Personen).

4. Verlauste Gegenstände oder Örtlichkeiten (Baracken, Unterstände usw.) für die die Möglichkeit anderer Entlausung, z. B. durch Hitze, Lösungen, Gase und Dämpfe, infolge der Unanwendbarkeit dieser Mittel oder ihres Fehlens nicht besteht, von Läusen zu befreien und frei zu halten (Entlausung von Gegenständen und Räumen).

Auf diese verschiedenen Ziele der Läusebekämpfung war die Versuchsmethodik und die Auswahl der zu prüfenden Mittel einzustellen.

Gesichtspunkte für die Auswahl der Mittel.

An chemischen Mitteln kommen für die angestrebten Zwecke sowohl leicht verdampfende und daher rasch eine giftige Dampfkonzentration erreichende Stoffe in Betracht, als auch solche von geringerer Flüchtigkeit, die eine gewisse Zeit zur Entwicklung der auf die Läuse giftig wirkenden Dampfmenge brauchen.

Bei den ersteren, den leicht flüchtigen Stoffen, ist zu erwarten, daß ihre Wirkung, wenn auch für eine gewisse Zeit ausreichend, nicht nachhaltig ist, da die Konzentration infolge der starken Flüchtigkeit bald wieder absinkt. Anwendbar erscheinen solche Stoffe daher nur dann, wenn eine gewisse Behinderung der Verflüchtigung der Dämpfe durch ihre Anwendung gegenüber verlausten Objekten in Kisten, Kleiderschränken usw. erreicht werden kann, oder wenn es sich um einen kurz dauernden Schutz handelt, z. B. von Personen (Ärzten, Pflegern, Aufsichtspersonal) für eine kurze Zeit der Berührung mit besonders infektionsgefährlichen Orten (Krankenlagern, Baracken), Gegenständen und Menschen (Prophylaxe bei Fleckfiebergefahr).

Die zweite Art von Mitteln, nämlich die der schwerer flüchtigen, schien dagegen da am Platz zu sein, wo nicht die Vermeidung der Fleckfieberinfektion Ziel der Läusebekämpfung zu sein brauchte, sondern nur die stete Belästigung durch die Läuseansiedlung in Kleidern, Wäsche, Betten, Möbeln und Räumen zu beseitigen war (Prophylaxe gegen die Belästigung durch Verlausung). Von solchen Mitteln war nicht zu erwarten, daß sie unmittelbar nach ihrer Anwendung schon ihre Wirkung zeigten, auch nicht, daß sie sofort jede frisch angekrochene Laus abtöten. Eine gewisse Inkubationszeit für die Wirkung war also in Ansatz zu bringen und infolgedessen auch mit in Kauf zu nehmen, daß etwa frisch angekrochene Läuse noch zum Beißen kommen. Die Aufgabe solcher Mittel war es also nur, bei nicht zu häufig zu wiederholender Anwendung zu vermeiden, daß es zu dauernder Verlausung von Personen, Gegenständen oder Orten kommt, während ein sicherer Schutz gegen die Fleckfieberinfektion durch sie nicht gewährt wird.

Gesichtspunkte für die Versuchsanordnung.

Es ist einleuchtend, daß über den Wert und die Anwendbarkeit eines Entlausungsmittels nur die Praxis zu entscheiden vermag und daß sich im Laboratorium keine Versuchsanordnung so ausreichend den Verhältnissen bei der Läusebekämpfung anpassen läßt, um den Erfolg bei der Anwendung des Mittels in der Praxis mit Sicherheit voraussagen zu können.

Vor allem wäre es schwierig, den Laboratoriumsversuch den Verhältnissen nachzubilden, unter denen die Mittel am bekleideten Körper zur Einwirkung auf die Läuse kommen, und so unter möglichst entsprechenden Bedingungen im Laboratorium festzustellen, ob bei der Anwendung ein Mittel aufgesprayt oder in Pulverform aufgestäubt und durch die Körperwärme verdampft, die erwartete Wirkung auf Läuse hat. Denn die steten Bewegungen des Körpers ändern in diesem Falle fortwährend die Verteilung der festen Stoffe ebenso wie die der Dämpfe; die unter den verschiedensten Winkeln verlaufenden Flächen des Körpers und der Kleidung erschweren oder erleichtern ein Haften der festen Substanzen. Die Pulvern und Dämpfen schwer erreichbaren Teile der Anzüge und der Wäsche (Nähte, Falten, Taschen, Futter und andere abgeschlossene Partien) gewähren den Läusen Unterschlupf und entziehen sie der Einwirkung der Mittel. Vor allem ist aber zu berücksichtigen, daß die Temperatur an den verschiedenen Teilen der Körperoberfläche und der Bekleidung starke Schwankungen zeigt, je nach der Art der Wäsche- und Kleiderstoffe, nach ihrem Abstand von der Haut und der Stärke des Luftaustausches, wie er durch Bewegung, die Außentemperatur und andere Faktoren beeinflußt wird.

Wie man nun aber auch den Desinfektionswert einer Verbindung zuerst im Laboratoriumsversuch in der Weise feststellt, daß man ihre Wirkung auf Keime unter einfachen Verhältnissen mit der schon bekannter Verbindungen vergleicht, bevor man an eine praktische Erprobung herantritt, so war somit auch hier eine Versuchsmethodik anzuwenden, die unter verschiedenen Bedingungen jeweils gut vergleichbare Resultate lieferte und damit so viel als möglich auch Aufschlüsse über die praktische Anwendbarkeit der Mittel gab. Wenn es auch auf Grund des Versuchsausfalls im Laboratorium nicht möglich sein wird, einen Stoff als unter diesen oder jenen Umständen sicher wirksam zu bezeichnen, so kann man doch auf Grund solcher Vergleichsversuche schlecht oder gar nicht wirksame Mittel mit ziemlicher Sicherheit ausscheiden und für eine praktische Erprobung eine Auswahl unter solchen Stoffen treffen, die wirksam sind und sich auch ihrem chemischen und physikalischen Verhalten nach bei der Läusebekämpfung voraussichtlich als brauchbar erweisen werden.

In den bisherigen Laboratoriumsversuchen sind nun häufig die Läuse in Reagensgläsern, Kölbchen oder Schälchen der Wirkung von Dämpfen eines Mittels ausgesetzt worden, das an einer den Läusen unzugänglichen Stelle in beliebiger Menge der Verdampfung überlassen war, meist so, daß die Dämpfe von oben herabsinkend sich bei den Läusen am Boden des Kölbchens anreicherten. Diese Anordnung gibt aber für die Wirkung unzutreffende Verhältnisse; denn die Läuse leben am Körper nicht in

einem reinen Dampfraum, oder an einer dem Glas entsprechenden glatten Oberfläche; sie befinden sich auch nicht an Stellen, an denen die Dämpfe sich sammeln können; vielmehr bieten die Oberflächen, an denen die Läuse sich bewegen — die Haut und die Kleidungsstoffe — einerseits nicht wie der Boden von Schälchen oder Röhrchen ihrer Lage nach den Dämpfen Gelegenheit zur Anhäufung in stärkerer Konzentration und andererseits vermögen sie zum Teil infolge ihrer Oberflächenentwicklung und Porosität die Dämpfe in ganz anderer Weise an sich zu verdichten als Glas oder Porzellan.

Prüft man außerdem nur die Wirkung der Dämpfe der Mittel auf die Läuse, hält sie aber in weitem Abstand von den Stoffen selbst, so schließt man von vornherein zahlreiche Stoffe von der Anwendung aus, die allerdings schwerer verdampfen, die aber doch auf den Körper und die Kleidungsstücke aufgestäubt oder aufgespritzt auch in erheblicher Verdünnung recht stark auf die darüber kriechenden Läuse wirken können, wenn die Läuse bei ihren Bewegungen immer wieder in nahe Berührung mit ihnen kommen.

Man darf ferner aus den oben angeführten Gründen bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse auch den Geschwindigkeitsfaktor nicht einseitig überschätzen und muß namentlich auch feststellen, ob die Wirkung des Mittels rasch vorübergeht oder eine nachhaltige ist. Daß manche Mittel nur betäuben aber nicht abtöten ist bei vielen in der Literatur bekannt gewordenen Versuchen nicht genügend berücksichtigt worden. Die Narkose hält allerdings in manchen Fällen stundenlang vor, so daß zur sicheren Feststellung des Todes der Tiere noch nach 20 Stunden eine Kontrolle unter mechanischer Reizung nötig ist.

Schließlich ist in manchen Arbeiten den quantitativen Verhältnissen zu wenig Beachtung geschenkt worden. Denn um die Wirksamkeit der Stoffe unter sich vergleichen und feststellen zu können, ob zur sicheren und schnellen Wirkung eines Stoffes relativ große oder kleine Mengen davon anzuwenden sind, ist es erforderlich, in jedem Versuch mit möglichst gleichen und dabei abgestuften Mengen zu arbeiten.

Die angewandte Prüfungsmethode.

Um allen erwähnten Anforderungen möglichst zu entsprechen, wurde nun folgende Versuchsanordnung gewählt, die der Methodik der vergleichenden Desinfektionswertbestimmung gegenüber Bakterien nachgebildet ist: Zum Vergleich der Wirksamkeit der zu prüfenden Mittel unter sich wurden von jedem Stoffe auf ein schwarzes quadratisches Wollläppchen von 2 cm Seitenlänge und 2 mm Stärke, das in einem Doppelschälchen von 5,5 cm Durchmesser und etwa 40 ccm Inhalt lag, jeweils gemessene Mengen aufgetragen und verteilt. Von Flüssigkeiten wurden je 1, 2 und 3 Tropfen mit Pipetten von gleichem Durchmesser, von festen, feingepulverten Stoffen 1, 2 und 3 Ösen mit der gleichen Platinöse aufgetropft bezw. aufgebracht und gleichmäßig verrieben. Mit solchen imprägnierten Läppchen wurden nun in 3 parallelen Reihen folgende vergleichende Versuche angestellt:

Methode I: Unmittelbar nach der Verteilung des Mittels auf dem Läppchen wurden 8—10 Läuse verschiedener Größe in je einem solchen Schälchen auf den

Glasboden gesetzt, der Deckel aufgelegt und das Verhalten der Läuse zunächst von 5 zu 5 Minuten, im weiteren Verlauf des Versuchs in größeren Abständen festgestellt und notiert. Die Läuse streben dann meistens auf das Wolläppchen zu; da es ihnen besseren Halt als die Glasfläche bietet; nur in seltenen Fällen wandern die Läuse, vertrieben durch die Dämpfe des Mittels, nach dem Rande des Schälchens.

Methode II: Die Schälchen blieben nach dem Verteilen der Mittel 24 Stunden lang mit aufgesetztem Deckel verschlossen stehen, dann erst wurden 8—10 Läuse eingebracht und diese wie bei der Anordnung der Methode I beobachtet.

Methode III: Die Schälchen mit den beträufelten oder bestäubten Läppchen blieben 24 Stunden lang offen stehen, worauf gleichfalls 8—10 Läuse eingesetzt und in gleicher Weise wie bei Methode I weiter beobachtet wurden. Dabei blieben die Schälchen offen.

Wenn bei Versuchen nach Methode I und II die Läuse in den Schälchen bewegungslos geworden waren und auch nicht mehr auf mechanische Insulte (Berühren und Verschieben mit einer Platinöse) mit Ortsbewegung oder Zappeln reagierten, so wurden die Schälchen dauernd offen gehalten. Bei offen stehenden Schälchen wurden die Läuse dann von Zeit zu Zeit unter Anwendung mechanischer Reize weiter darauf beobachtet, ob und nach welcher Zeit sie wieder Bewegungen ausführten. Diese Prüfung wurde meist auch 20—24 Stunden nach der Öffnung der Schälchen nochmals vorgenommen und diente zur Feststellung, ob das Mittel in der Zeit, während der das Schälchen geschlossen war, nur betäubend oder in der Tat abtötend gewirkt hatte. Für diese Feststellung wurde — natürlich nur dann, wenn sich das Präparat überhaupt als wirksam erwiesen hatte — noch in genauerer Ausführung die

Methode IV angewandt: 3 Reihen mit je 10 Schälchen wurden mit 1 bezw. 2 und 3 Tropfen oder Ösen des zu prüfenden Mittels beschickt und nach dessen Verteilung auf dem Wollläppchen 8—10 Läuse eingebracht. Waren die Läuse durchweg bewegungslos geworden, so wurde zunächst von jeder Schälchenreihe je eines — also je eines der mit 1, 2 und 3 Tropfen bezw. Ösen beschickten Schälchen — geöffnet und die Läuse beobachtet. In bestimmten Zeitabständen von 5, 10 oder 15 Minuten wurde mit je einem weiteren der 1, 2 und 3 Tropfen enthaltenden Schälchen ebenso verfahren. Die Beobachtung wurde unter mechanischer Reizung der Läuse auf mehrere Stunden ausgedehnt und meist nach 24 Stunden wiederholt. Aus diesen Versuchen ergibt sich noch genauer, nach welcher Einwirkungszeit die Abtötung der Läuse eingetreten war.

Die Einzelheiten der Versuchsanordnung und die Ergebnise sind aus den Tabellen ersichtlich, die den größeren Teil der nach den Methoden I, II und III ausgeführten Versuche wiedergeben, während nur einzelne Versuche nach der Methode IV als Beispiele in der Tabelle 18 aufgeführt sind. Eine ausführliche Wiedergabe aller Versuche würde zu viel Raum beansprucht haben. Die Ergebnisse der Versuche nach diesen 4 Methoden sind schließlich in der Tabelle 19 zusammengefaßt, wobei die nach allen 4 Methoden erhaltenen Resultate zum Vergleich nebeneinander angeordnet sind.

Alle untersuchten Mittel wurden in der gleichen Weise mehrfach und mit Läusen verschiedener Herkunft geprüft.

Von einer Prüfung der namentlich zum persönlichen Schutz, und zwar zu prophylaktischer Anwendung und Behandlung verlauster Personen bekannten Mittel auch gegenüber Nissen konnte abgesehen werden. Denn eine Infektion eines Unverlausten mit Nissen kann natürlich nur durch verlauste Kleidungs- und Wäschestücke erfolgen und für diese gibt es ja fast immer Mittel und Wege zur gründlichen Entlausung durch Wärme, Gase und Lösungen. Daher ist es auch zum Schutz gegen Verlausung bei Gefahr der Fleckfieberinfektion ausreichend, daß frisch angekrochene Tiere möglichst schnell bewegungslos und abgetötet werden. Das gleiche gilt auch für die Prophylaxe gegen die Belästigung durch dauernde Verlausung, denn auch diese braucht sich nur gegen die entwickelten Tiere zu richten.

Die Wirkung auf die Nisse kommt beim persönlichen Schutz nur in Frage bei der Behandlung schon verlauster Personen. Aber auch in diesem Falle braucht man nicht die Forderung zu stellen, daß die Mittel die Keimfähigkeit der Nisse unbedingt unterdrücken. Denn die Nisse werden ja nur dadurch gefährlich, daß junge Tiere aus ihnen auskriechen und auf diese wirken auch die zum Schutz gegen die schon vorhandenen und neu ankriechenden Läuse angewandten Mittel abtötend; dabei ist es praktisch ohne Bedeutung, daß die frisch ausgekrochenen Tiere — wie hier in Übereinstimmung mit anderen Angaben in der Literatur ebenfalls vielfach beobachtet wurde — resistenter gegen Gifte sind, als die ausgewachsenen Läuse. Es erscheint daher auch in diesem Falle ausreichend, Körperoberfläche und Kleidung so unter der dauernden Wirkung eines Mittels zu halten, daß an- wie auskriechenden Tiere rasch bewegungslos und in annehmbarer Zeit abgetötet werden. Gelänge es, durch ein Mittel die vorhandenen Läuse abzutöten und die Neuansiedlung von Läusen in der Kleidung zu unterbinden, so wäre damit für die Durchführung einer persönlichen Prophylaxe schon viel gewonnen.

Ähnlich liegt die Aufgabe auch bei der Entlausung von Örtlichkeiten; man wird die von Läusen befallenen Stellen so unter der Wirkung eines Mittels halten müssen, daß sich Läuse nicht neu ansiedeln können und die etwa aus den Nissen noch ausgekrochenen rasch durch die Einwirkung des Mittels getötet werden.

Aus den Versuchen nach den von mir angewandten Methoden lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. ob das geprüfte Mittel überhaupt Kleiderläuse bewegungslos macht, ob dies durch eine niedere oder hohe Konzentration des Mittels, und in kurzer oder längerer Zeit bewirkt wird (Methode I),
2. ob die Bewegungslosigkeit auf Narkose oder Abtötung beruht und in welcher Zeit die Abtötung eintritt (Methode I und IV),
3. ob die Wirkung des Mittels infolge der Verflüchtigung wirksamer Anteile sich rasch verliert oder verringert oder ungeschwächt während längerer Zeit erhält (Methode I, II und III) und endlich ob das Mittel auch im freien Luftraum eine gewisse Wirksamkeit bewahrt (Methode III).

Die absoluten Abtötungszeiten wurden in den Versuchen nicht festgestellt, denn wie ein Vergleich der Versuchsergebnisse nach Methode I und II zeigt, haben viele Mittel auch in den geschlossenen Doppelschälchen eine erhebliche Flüchtigkeit, so daß

während des Versuches die Dampfkonzentration absinkt. Derartige Mittel werden sich auch in Kisten und Schränken ähnlich verhalten. Damit ergaben sich eine ganze Reihe von Anhaltspunkten für die Beurteilung eines chemischen Stoffes und bezüglich seiner Verwendbarkeit für verschiedene Zwecke.

So würden sich zur persönlichen Prophylaxe gegen Fleckfieberinfektion nur Stoffe eignen, die rasch betäubend und kurze Zeit darauf auch abtötend wirken; die Eignung hierzu würde nach den Methoden I und IV festzustellen sein.

Für den Schutz gegen die Belästigung durch Verlausung aber ist in erster Linie eine Dauerwirkung geboten, während sofortige Betäubung und rasche Abtötung zwar erwünscht, aber nicht unbedingtes Erfordernis sind. In der Bekleidung muß dann dauernd eine solche Konzentration aufrecht erhalten werden, daß frisch ankriechende Läuse darin bald absterben und nicht zur Eiablage und Ansiedlung gelangen. Ausgeschlossen sind daher sehr flüchtige Stoffe, deren Wirkung infolge Verdunstung auch durch die Kleidung hindurch bald verloren geht, da meistens schon die äußeren Umstände eine in kurzen Abständen wiederholte Behandlung mit dem Mittel verbieten. Dagegen erscheinen Mittel dazu wohl geeignet, die langsam einen ausreichend giftig wirkenden Dampfdruck entwickeln, der dann infolge geringer Flüchtigkeit aber nur wenig absinkt und sich immer wieder aus dem anzubringenden Depot ergänzt. Besonders solche Stoffe erscheinen dazu geeignet, deren Dämpfe sich an den der Haut anliegenden Flächen der Kleidung kondensieren. Die Eignung für diesen Zweck wird festgestellt nach den Methoden II und III.

Dieselben Stoffe würden in Betracht zu ziehen sein bei schon verlausten Personen zur Entlausung und dauernden Befreiung von Läusen, sofern zur Entlausung der Kleider und des Körpers andere Verfahren (Hitze, Gase, Lösungen) der Umstände wegen nicht anwendbar sind.

Bei Entlausung von Objekten in Schränken und Kisten wird meist eine Wirkung innerhalb weniger Stunden bei leidlicher Abdichtbarkeit des Behältnisses verlangt werden. Anhaltspunkte für die Wahl geeigneter Mittel werden daher Methode I und II geben.

Für die Befreiung und Freihaltung von offenliegenden Örtlichkeiten (Baracken, Unterstände usw.) von der Verlausung können nur Mittel in Frage kommen, die auch bei längerem Liegen an offener Luft noch ausreichend Wirksamkeit behalten, also solche, die sich bei der Prüfung nach der IV. Methode bewährten.

Nach diesen Gesichtspunkten ist es möglich, für die praktische Erprobung diejenigen Stoffe auszuwählen, die für den betreffenden Zweck eine gewisse Aussicht auf erfolgreiche Anwendung bieten.

Nach dem Verwendungszweck richtet sich dann die Anwendungsform.

Die Anwendungsform.

Ist, wie bei unmittelbarer Gefahr der Flecktyphusinfektion, eine rasche Vernichtung der Läuse geboten, so wird am zweckmäßigsten eine Versprayung schnell wirkender flüssiger Mittel auf alle die Teile des Körpers und der Kleidung in Betracht kommen, die mit den verlausten Objekten in Berührung kommen (Ellbogen und

abstehende Teile der Kleidung) und Eintrittspforten für die Läuse bilden können (Ärmel und Beinkleidlöcher sowie die Halspartie).

Wenn es sich aber um den Schutz gegen die Belästigung durch die Verlausung handelt, so muß am ganzen Körper und in der Kleidung eine zur Unterbindung der Ansiedelung und zur Abtötung der vorhandenen und auskriechenden Läuse ausreichende Dampfkonzentration erzeugt und aufrecht erhalten werden. Dabei ist es schon aus Gründen der Bequemlichkeit zu vermeiden, daß die betreffenden Mittel zu häufig und etwa nur bei abgelegter Kleidung neu aufgetragen werden müssen. Man kann zu dem Zweck feste, leicht in Dampfform übergehende Verbindungen verwenden oder Flüssigkeiten, die aber der leichteren Anwendung wegen zweckmäßiger wohl nicht auf den Körper und die Bekleidung aufgesprayt, sondern an poröse Stoffe, wie Kieselguhr, adsorbiert und dann wie feste Mittel verwendet werden. Die beste Anwendungsart der Mittel wäre daher ein gründliches Einpudern der als Eintrittsstellen und Brutplätze gefährdeten Teile, von denen aus die Stoffe dann verdampfen können. Namentlich bei Anwendung von feinpulverigen Mitteln, die mit den Fingern oder mit geeigneten Zerstäubern vom Kragen aus, durch den Brusthemdschlitz nach der Schulter, dem Rücken und Bauch und von den Beinkleidern aus nach den unteren Extremitäten hin verteilt würden, ließe sich wohl eine ausreichende Sättigung der Lufträume zwischen Körper und Kleidung mit den Dämpfen der wirksamen Stoffe herstellen.

Es ist nun mehrfach empfohlen worden, die Mittel in Beutelchen einzunähen und diese in der Brust- und Hüftgegend aufgehängt am Körper zu tragen. Aus diesen Säckchen sollen die Mittel dann allmählich durch die Körperwärme in Dampfform übergeführt werden, sich am Körper und in der Kleidung verteilen und so zur Wirkung kommen.

Gegen die vorgeschlagene Art und Weise, die Säckchen zu tragen, scheinen mir aber erhebliche Bedenken zu bestehen. Denn die Dämpfe aller zur Läusevernichtung verwendbaren Stoffe sind erheblich schwerer als die Luft, sie werden daher das Bestreben haben, in dem Luftraum zwischen Körper und Unterkleidung sich nach unten hin anzureichern, zum mindesten aber nicht nach oben zu steigen, so daß gerade Hauptsitze und Lieblingsbrütplätze der Läuse, nämlich die Gegend des Halskragens, die Schulterhemdnaht und die Achselhöhle, von den Dämpfen so gut wie garnicht erreicht werden. Will man daher ein Depot schaffen, von dem aus die Stoffe verdampft zur Verteilung kommen sollen, so erscheint es aus den angegebenen Gründen zweckmäßiger, dieses möglichst hoch und an verschiedenen Stellen am Körper und in den Zwischenräumen zwischen den Kleidungsstücken anzulegen, indem man etwa die Beutelchen am Hemd und an der Jacke über der Schulter und außerdem noch in der Hüftgegend an Ober- und Unterbeinkleid befestigt und die Substanz auch lose immer wieder zwischen Kragen und Hals einstreut.

Auch wenn es sich um Vernichtung von Läusen an Kleidern und Wäsche in geschlossenen Räumen, in Schränken und Kisten handelt, wird es nötig sein, die Stücke einzeln mit den Mitteln zu bestreuen oder zu bespritzen oder die Flüssigkeiten, deren Dämpfe die Läuse und Nisse vernichten sollen, zu oberst in dem betreffenden Raume aufzustellen und der Verdampfung zu überlassen. Denn von so

schweren Dämpfen, wie sie Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff und ähnliche Flüssigkeiten bilden, von Dämpfen also, die so sehr das Bestreben haben, nach der tiefsten Fläche hinzukriechen, kann man nicht erwarten, daß sie ohne Anwendung künstlicher Ventilation nach oben steigen, enge Stellen überwinden, und von unten her sich ausbreiten und in ausreichender Konzentration auf Läuse und etwa auch Nisse wirken werden.

Für die **Auswahl der zu prüfenden Mittel** kamen nun vor allem Stoffe aus Körperklassen in Betracht, deren Giftigkeit und narkotische Wirkung bekannt ist. Es wurden zunächst Verbindungen gewählt, die als fertige Präparate von chemischen Fabriken bezogen werden konnten. So wurden, um festzustellen, welche Gruppe sich durch besonders starke Wirkung auf Läuse auszeichnet, von möglichst vielen Körperklassen die zugänglichen Verbindungen durchgeprüft, nämlich Kohlenwasserstoffe, ihre Halogensubstitutionsprodukte, Alkohole, Phenole, Äther usw. Erprobt wurden auch Läusetötungsmittel des Handels, die von ihren Erfindern bezw. Herstellern besonders empfohlen waren. Außer auf die chemische Konstitution war dabei auch auf das physikalische Verhalten zu achten, insbesondere darauf, ob sich die bewährt befundene Verbindung bei gewöhnlicher Temperatur in flüssigem oder festem Aggregatzustand befindet und niederen oder hohen Siedepunkt, geringen oder starken Dampfdruck hat. Durch einen Vergleich der chemischen Konstitution und der physikalischen Eigenschaften erhält man dann weitere Anhaltspunkte für die Auswahl der zu prüfenden Verbindungen. Der Preis in den Listen der Präparatenfabriken war für die Auswahl nicht maßgebend, denn Verbindungen, die synthetisch gewonnen werden können, stellen sich fabrikmäßig hergestellt ungleich billiger als sie von den meist nur mit kleineren Mengen arbeitenden Präparatenfabriken geliefert werden können.

Geprüft wurden gegen 200 Stoffe, von denen in den Tabellen etwa 150 aufgeführt sind. Über die Wirkung einiger dieser Verbindungen gegenüber Läusen liegen schon von anderen Autoren teils günstige, teils weniger günstige Angaben vor. Da die Ergebnisse dieser Versuche, die mit den verschiedensten Versuchsanordnungen ausgeführt sind, sich zum Teil sehr widersprechen und keine einheitliche Beurteilung zulassen, soll hier von einer Erörterung dieser Angaben aus der Literatur im allgemeinen abgesehen werden.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse nach den Methoden I, II und III sind in getrennten Tabellen zusammengestellt. Als Maßstab für die Flüchtigkeit der Mittel und den Dampfdruck, den sie bei gewöhnlicher Temperatur haben, ist der Siedepunkt aufgeführt, wenn es sich um chemisch reine Stoffe handelt. Ferner ist angegeben, wie viel Tropfen bezw. Ösen der Mittel in die Schälchen gegeben waren. Bei der Methode I und II wurden die Läuse in den bedeckten Schälchen zunächst auf ihr Verhalten unter dem Einfluß der Dämpfe beobachtet; blieben alle stark beweglich, so ist das in den Vertikalspalten mit +++ bezeichnet; wurden einige bewegungslos oder die Beweglichkeit aller herabgesetzt, so findet sich dafür das Zeichen ++; ist der größte Teil leblos oder sind alle von sehr schwacher Beweglichkeit, so wurde das Zeichen + gesetzt; ein (+) gibt an,

daß sich Bewegungen nur durch mechanische Reizung mit der Platinöse hervorrufen ließen; das Zeichen — bedeutet Unbeweglichkeit aller Tiere auch gegen Berührung. Wurden einige Zeit nach eingetretener Bewegungslosigkeit die Deckel der Doppelschälchen abgenommen und damit freier Luftzutritt und Verflüchtigung des gebildeten Dampfes ermöglicht, so findet sich in der Längsspalte das Zeichen Ö; die Beobachtung wurde dann bei geöffneten Schälchen in gleicher Weise fortgesetzt. Bei der Methode III hatten wie erwähnt, die Schälchen mit den Mitteln beschickt 24 Stunden lang offen gestanden; sie waren dann mit 8—10 Läusen besetzt und offen weiter beobachtet worden.

Von den nach Methode IV ausgeführten Versuchen — Öffnung von je einem mit Läusen und mit 1, 2 oder 3 Tropfen bezw. Ösen des Mittels beschickten Schälchen zu bestimmten Zeiten sind in Tabelle 18 — wie oben erwähnt — nur einige Versuche als Beispiel angeführt. Die Ergebnisse nach dieser Methode finden sich eingetragen in der alle Ergebnisse nach den 4 Methoden zusammenfassenden Tabelle 19, in der angegeben ist, nach welcher Zeit bei allen Versuchsanordnungen eine als Abtötung anzusehende Bewegungslosigkeit eingetreten war. Vermeiden die Läuse in ausgesprochener Weise das mit dem Mittel betropfte oder bestäubte Läppchen oder wandern sie mit besonderer Schnelligkeit, scheinbar angezogen, darauf los, so ist dies in den Tabellen unter der Spalte „Bemerkungen" angegeben. Dort findet sich auch ein Hinweis darüber, wenn unter dem Einfluß der Mittel eine Färbung der Läuse, z. B. Gelbfärbung bei Salizylaldehyd, Rotfärbung bei Kresolen, aufgetreten war.

Die aliphatischen Kohlenwasserstoffe (Methode I s. Tab. 1, Methode II und III s. die Tab. 2 bezw. 3). Geprüft wurden die aliphatischen Kohlenwasserstoffe, wie sie in dem Vorlauf der Petroleumdestillation enthalten sind und je nach dem Siedepunkt unter dem Namen Petroläther, Benzin, Ligroin in den Handel kommen.

Ein gewöhnliches Handelsbenzin war in diesen Versuchen bei geringem Zusatz (1 und 2 Tropfen) fast wirkungslos, auch nach 24 Stunden war in den verschlossenen Schälchen keine Abtötung der Läuse eingetreten. 3 und mehr Tropfen dagegen bewirkten rasch Bewegungslosigkeit. Als nach 20 Minuten diese Schälchen geöffnet wurden, erholten sich aber die nur betäubten Läuse in den Schälchen mit 3 und 4 Tropfen im Verlauf von 30 Minuten und waren auch nach 24 Stunden wieder zum größten Teil ganz munter. Nur in den Schälchen mit 5 und 6 Tropfen trat, von einer schwachen Abwehrbewegung gegen mechanische Reizung abgesehen, keine Wiedererholung ein, die Läuse waren auch bei der Beobachtung nach 24 Stunden leblos.

Bei den nieder, zwischen 50 und 60° siedenden Anteilen des Petroleumvorlaufs (Petroläther) trat noch bei einem Zusatz von 3 Tropfen keine Bewegungslosigkeit bei den Läusen ein und die bei höherem Zusatz zeitweise zu beobachtende Betäubung der Tiere ging selbst in verschlossenen Schalen in 3 Stunden zurück. Bei dieser Kohlenwasserstofffraktion war anscheinend die Flüchtigkeit trotz des gut aufsitzenden Deckels zu groß, als daß es zu einer dauernden Beeinflussung hätte kommen können.

Bei der Prüfung der folgenden Fraktionen des Erdölvorlaufs trat die Wirkung auf die Läuse um so eher ein und hielt um so länger an, je höher der Siedepunkt der Fraktion lag. So machte der zwischen 80—90° siedende Anteil

Tabelle 1. Einwirkung von Kohlenwasserstoffen der Fettreihe und ihren Halogensubstitutionsprodukten sowie Schwefelkohlenstoff auf Kleiderläuse nach Methode I.

(Gleichzeitige Einbringung des Mittels und der Läuse in die Schälchen.)

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Verhalten der Läuse nach einer Einwirkung des Mittels während													
		5	10	15	20	30	40	50	60	90	120	150	180	210	24
		Minuten													Std.
Benzin aus dem Handel	1	+	+ +	+ +	+	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+ +	+
	2	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+ +	+	+ +	+
	3	—	—	—	— Ö	—	—	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+ +
	4	—	—	—	— Ö	—	—	+	+	+	+	+	+	—	+ +
	5 u. 6	—	—	—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—
Kohlenwasserstoffgemisch 50—60°	1	+	+ +	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+ +	+ + +		+ +
	2	+	—	+ +	+	+	+	+ +	+	+	+ +	+ +	+ + +		+ +
	3	+	+	+	+	+ +	+	+	+	+	+	+	+ + +		+ +
	4	+	—	—	—	—	—	—	(+)	—	—	+	+ + +		(+)
Kohlenwasserstoffgemisch 80—90°	1	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
	2—4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	(+)	—	—		+
ebenso 110—20°	1	+ +	+	—	+	+ +	+ +	+ +	+ +	—		+	+		+ +
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—		+
	3 u. 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—		—
ebenso 100—50°	1	+	—	+	+	—	—	—	—	—		—	(+)		+
	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—		(+)
	3 u. 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—		—
Amylen C_5H_{10} 31—37°	1	—	—			+		+ +	+ +	+ +	+ +			+ + +	+
	2	—	—			(+)		+	+	—	—			—	—
	3 u. 4	—	—			—		— Ö	—	—	—			—	—
Chloroform $CHCl_3$ 61°	1	+ +	+	+ +	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					+ +
	2	+ +	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)					+ +
	3—5	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—					+
	1	—	—	—	—	—	—		(+)	+	(+)	+			
	2 u. 3	—	—	—	—	— Ö			—	—	—	—			
Bromoform $CHBr_3$ 151°	1	—	—	—	—	—			—	—	—				
	2 u. 3	—	—	—	—	— Ö			—	—	—				
Tetrachlorkohlenstoff CCl_4 76°	1	—	—	—	(+)	—	(+)		+	+	+		+		
	2 u. 3	—	—	—	—	—	—		—	—	—		—		
	1	—	—	—	(+)	(+)	—		+	(+)	+	+			
	2	—	—	—	—	— Ö	—		+	+ +	+	+			
	3	—	—	—	—	— Ö	—		—	—	—	—			
Äthyljodid $CH_3 \cdot (H_2)$ 72°	1	+		(+)		(+)			(+)	(+)	(+)		+		
	2 u. 3	+		—		—			(+)	(+)	+		+		
Äthylenbromid $CH_2Br \cdot CH_2Br$ 131°	1 u. 2		—	— Ö	—	—	—		—						(+)
	3		—	— Ö	—	—	—		—						—
	1—3	—	—	—	—	— Ö	—		—	—	—	—			
Hexachloräthan $CCl_3 \cdot CCl_3$ (fest) 185°	1 u. 2	+ +	+ +	+ +	+ +	+ + +	+ +		+ +						—
	3	+ +	+	+ +	+ +	+ +	+		+						—
	1	+	+	+ +	+ +	+ +	+		+ +	+ +					+
	2	+ +	+ +	+	+	+ +	+		+	+					(+)
	3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+		+ +	+ +					—
Amylbromid $CH_3 \cdot (CH_2)_3 \cdot CH_2Br$ 129°	1	+	—	—	—				—	(+)	(+)			+	+
	2	(+)	—	—				—	—	—	—			—	—
	3 u. 4		—	—		—	—		—	—				—	—
	1		—	— Ö	—	(+)	(+)		(+)						(+)
	2 u. 3		—	— Ö	—	—	(+)		(+)						(+)
Schwefelkohlenstoff CS_2 47°	1	+	+		+	+ +	+	+ +	+	+	+ +		+ +		+ +
	2	—	—		+	+		—	(+)	+ +	+ +		(+)		(+)
	3	—	—			—			(+)	+	+		+		+
	4 u. 5	—	—		—	—	—	—	Ö		—		—		—
	1	—	—	—	—	— Ö	—	—			+				(+)
	2 u. 3	—	—	—	—	Ö	—	—			—				—
	1	—	—	Ö		+	+		+	+	+				
	2	—	—	Ö		—	—		—	+					
	3	—	—	— Ö		—	—		—	—					

Tabelle 2. Einwirkung von aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen und ihren Halogenverbindungen, Schwefelkohlenstoff und Äthern auf Kleiderläuse nach Methode II.

(Mittel vor Einbringen der Läuse 24 Stunden in verschlossenen Schälchen.)

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach Einwirkungszeit von 10 Minuten	20	30	45	60	75	90	120	150	180	240	24 Std.
Benzin 80–90°	1—3	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Benzin 100–120°	1—3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Benzol	1—3	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	++	
Toluol	1—3	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	
Xylol	1	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	+	–	+	
	2	+++	+	(+)	(+)	–	–	–	–	–	–	–	
	3	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Cumol	1	+++	++	+	(+)	–	–	–	–	–	–	–	
	2 u. 3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	
Cumol techn.	1 u. 2	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	
	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Äthylbenzol	1	+++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	
	2	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
	3	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
Cymol	1	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	
	2	+	(+)	(+)	+		–	–	–	–	–	–	
	3	+	(+)	(+)	–	–	–	–	–		–	–	
Acenaphthen	1—3	+++	+++	+++	+++	+++					+		–
Bromoform	1—3	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++		+	
Hexachloräthan	1—3	+++	+++	+++	++	++	++	++	++			+	
Schwefelkohlenstoff	1—3	+++	++	+	+	+		+	+		+	+	
Chlorbenzol	1—3	+++	++	++	++	++		++	++		++	++	
Brombenzol	1	+++	+++	+++	+++	++		++	++		++	++	
	2 u. 3	–	–	–	–	–		–	–		–	–	
Chlortoluol	1		++	++	++	++		+	+		+	+	
	2 u. 3		–	–	–	–		–	–		–	–	
Bromtoluol	1 u. 2	+	+	+	+	(+)		(+)	(+)			+	
	3	(+)	–	–	–	–		–	–			+	
	1	+	+	+	+	+		+	++		++	++	
	2 u. 3	++	+	–	–	–		–	–		–	–	
ortho-Dichlorbenzol	1—3	–	–	– Ö	–	–		–	–		–	–	
para „	1—3	(+)	–	– Ö	–	–		–	–		–	–	(+)
	1—3	+++	++	++	++	++		++	++		++	++	
	1—3	++	++	++	++	+		+	+		+	+	
Dibrombenzol	1—3	+++	++	++	++	++		++	++		+	–	
	1	+	+	+	+	+		+	(+)		(+)	(+)	
	2 u. 3	+	+	(+)	(+)	(+)		–	–		–	–	
Benzylchlorid	1—3	–	–	–	Ö	–		–	–		–	–	
Benzalchlorid	1—3	+	–	–	– Ö	–		–	–		–	–	
Bromnaphthalin	1 u. 2	+++	++	+	(+)	–		–	–		–	–	–
	3	+++	++	–	–	–		–	–		–		–
	1 u. 2	+	+	+	(+)	(+)			–		–	–	
	3	+	(+)	(+)	–	–			–		–	–	
	1—3	++	+++	+	+	(+)		(+)	(+)		–	–	
Äther	1—3	+++	+	++	+	+			++		++	++	
Trichlorather	1	++		+	(+)	–		–	–		–	–	
	2 u. 3	+		(+)	–	–		–	–		–	–	
Diphenyläther	1	+++	++	++	++	++		+	+		(+)	(+)	–
	2 u. 3	++	++	++	+	+		+	(+)		–	–	–
Benzyläthyläther	1	+	– Ö	(+)	(+)	(+)			–		(+)	(+)	
	2	(+)	– Ö	–	–	–			–		(+)	(+)	
	3	+	– Ö	–	–	–			–		–	–	

Tabelle 3. Einwirkung von aromatischen Kohlenwasserstoffen, halogensubstituierten aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen, Alkohol und Äthern auf Kleiderläuse nach Methode III.

(Mittel vor Einbringen der Läuse 24 Stunden in offenen Schälchen.)

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach Einwirkungszeit von										
		10	20	30	45	60	90	120	180	240	300	24
		Minuten										Std.
Benzol	1–3	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Toluol	1–3	++	++	++	++	++	++	++	++			+
Xylol	1–3	+++	+++	++	++	++	++	++	++			(+)
		+++	+++	+++	+++	++	++	++	++			+
Äthylbenzol	1–3	+++	+++	+++	++	+		+	+			(+)
Cumol	1–3	+++	+++	+++	++	++	++	++	+			(+)
		++	++	++	++	+	+	++	+	+		
		+++	+++	+++	++	++	++	++	++			(+)
Cumol techn.	1–3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++			(+)
Pseudocumol	1 u. 2	+++	+++	+++	++	++	++		++			(+)
	3	+++	+++	+	+	(+)	(+)		—			—
Propylbenzol	1–3	++	++	++	++	++	++	++	++	+		
Cymol	1–3	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	
Mesitylen	1–3	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	
Cyklohexan	1–3	++	++	++	++	++	++	++	+	+		
Naphthalin	1	++	++	++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
	2 u. 3	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	
Tetrachlorkohlenstoff	1–3	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	
Amylbromid	1–3	++	++	++	++	+	+	+	+	+		
Brombenzol	1–3	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++		+
ortho-Dichlorbenzol	1–3	+++	++	++	++	++	++	++	++	++		+
para- "	1–3	+++	++	+	+	+	+	(+)	(+)			+
para-Dibrombenzol	1	++	++	+	+	(+)	(+)	—	—	—	—	
	2 u. 3	++	++	+	(+)	—	—	—	—	—	—	
Chlortoluol	1–3	++	++	++	++	++	++	++	++	++		+
Bromtoluol	1–3	+++	+++	+++	+++	+++			+			++
Benzylchlorid	1–3	+++	+++	+++	+++	+++		++	++			+
Alkohol	1–3	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	
Önanthaldehyd	1–3	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+		
Diphenyläther	1–3	+++	+++	+++	++	++	+	+	(+)	(+)		—
Benzyläthyläther	1	+++	+++	+++	++	++	++		+			—
	2	+++	+++	++	+	+	+		—			—
	3	+++	++	+	—	—	—		—			—

(entsprechend den höher siedenden Teilen der Benzinfraktion) schon bei einem Zusatz von 2 Tropfen die Läuse rasch bewegungslos, aber nach 24 Stunden waren sie auch in verschlossenen Schälchen von der Betäubung wieder erwacht. Immerhin ist die narkotische Wirkung der Dämpfe dieser Fraktion von ziemlicher Dauer. Läuse, die 60 Minuten lang in einem Gemisch dieser Dämpfe mit Luft gelegen hatten, blieben noch mehr als 3 Stunden bewegungslos, nachdem sie wieder in frische Luft gebracht waren und erholten sich auch weiterhin nur langsam, waren aber nach 24 Stunden

wieder zum Teil beweglich (s. den ersten Versuch nach Methode IV in Tab. 18). Dehnt man sonach die Beobachtung der bewegungslosen Tiere nicht sehr lange aus, so läuft man hier wie in anderen Fällen Gefahr, eine Abtötung anzunehmen, wo nur eine Betäubung vorlag.

Durch eine Behandlung von Kleidern und Wäsche mit Benzindämpfen bei gewöhnlicher Temperatur dürfte jedenfalls nach diesen Erfahrungen keine befriedigende Entlausung bewirkt werden.

Die zwischen 110 und 120° siedenden Kohlenwasserstoffe (obere Anteile der Ligroinfraktion) machten die Läuse bei mindestens 2 Tropfen auf 40 ccm Luftraum in etwa 5 Minuten bewegungslos und bei 3 Tropfen trat in den verschlossenen Schalen auch keine Wiedererholung ein. Ebenso verhielt sich das zwischen 100 und 150° siedende Gemisch von Kohlenwasserstoffen, das in einem Fall bei der Prüfung nach der IV. Methode sogar schon in 60 Minuten bei geringem Zusatz Abtötung bewirkt hatte (siehe Tabelle 19).

Wurden die Tiere aber erst in die Schälchen gesetzt, nachdem diese 24 Stunden lang mit 1, 2 und 3 Tropfen der Kohlenwasserstofffraktionen mit den Siedepunkten 80 bis 90° und 100 bis 120° verschlossen gestanden hatten (Methode II, siehe Tabelle 2), so war kaum ein Einfluß auf die zugebrachten Läuse mehr festzustellen. Die Flüssigkeiten hatten sich also trotz des aufgesetzten Deckels in dieser Zeit aus den Schälchen zum größten Teil verflüchtigt. Es lag daher auch kein Anlaß vor, diese Kohlenwasserstoffe nach der III. Methode zu prüfen, da nach 24stündigem Offenstehen der Schälchen eine Wirkung natürlich ganz ausgeschlossen war.

Eine sehr rasche Wirkung zeigte das Amylen genannte Gemisch ungesättigter Kohlenwasserstoffe auf Läuse. Dem niederen Siedepunkt des Mittels entspricht aber wieder eine starke Flüchtigkeit, so daß die bei Zusatz von einem Tropfen schon in 5 Minuten eintretende Betäubung der Läuse bald wieder verschwand und die Tiere auch nach 24 Stunden noch am Leben waren. Dagegen hatten 2 Tropfen obwohl eine vorübergehende Wiedererholung einiger Tiere eingetreten war, schließlich doch abtötend gewirkt und 3 und 4 Tropfen hatten nach 50 Minuten Einwirkung die Läuse getötet, so daß auch bei Öffnung der Schälchen nach dieser Zeit keine Wiedererholung mehr eintrat.

Das Petroleum und daher auch die Vorläufe der Petroleumdestillation sind aber je nach der Herkunft von verschiedener Zusammensetzung. Die erwähnten von mir geprüften Kohlenwasserstoffgemische, deren Siedepunkte zwischen 50 und 150° lagen, bestanden vorwiegend aus Kohlenwasserstoffen der Paraffinreihe, also gesättigten Kohlenwasserstoffen. Das verhältnismäßig günstige Ergebnis der Versuche mit Amylen legte es aber nahe die Kohlenwasserstoffe der ungesättigten (Olefin- und Acetylen-) Reihen näher auf ihr Verhalten gegenüber Läusen zu prüfen, bezw. Petroläther, Benzine und Ligroine zu verwenden, die in höherem Maße aus ungesättigten Kohlenwasserstoffen bestehen. Leider konnte ich mir derartige Präparate nicht beschaffen. Die Wirkung des Amylens ist aber so auffallend, daß weitere Prüfungen in dieser Richtung angezeigt erscheinen.

Vielleicht sind einige Empfehlungen des Benzins und Petroleums in der Literatur zur Bekämpfung der Kleiderläuse und von Insekten allgemein auf die Wirkung derartiger ungesättigte Kohlenwasserstoffe enthaltende Gemische zurückzuführen (z. B. durch Bacot[1]) gegen Flöhe und Wanzen, Busson[2]), Küster und Günzler[3]), Paul[4]), Dreuw[5]) gegen Kleiderläuse).

Die höher siedenden Anteile des Petroleumvorlaufs scheinen allerdings auch dann, wenn sie vorwiegend aus gesättigten Kohlenwasserstoffen bestehen, ziemlich rasch und auch sicher auf Kleiderläuse zu wirken, so daß eine Entlausung von Kleidern, Wäsche usw. in gut abdichtbaren Räumen wie Schränken, Kisten, mit diesen immerhin möglich erscheint, wenn für eine gute und gleichmäßige Verteilung der Dämpfe im Raum gesorgt wird. Zum persönlichen Schutz aber kommt ihre Anwendung nicht in Frage, da sich die Wirkung zu rasch durch Verflüchtigung verliert.

Halogensubstituierte Kohlenwasserstoffe der Fettreihe (siehe Tabelle 1, 2 und 3). Wie auch andere flüchtige Mittel war Chloroform in einigen Fällen gut wirksam, in einigen anderen dagegen schlechter, auch bei Anwendung höherer Konzentrationen. In verschlossenen Schalen war die Wirkung aber nach 24 Stunden bereits ganz geschwunden. Etwas besseren Erfolg zeigten Tetrachlorkohlenstoff und Bromoform. Namentlich bei höherem Gehalt wirkten beide ziemlich rasch und kräftig (siehe auch einen Versuch nach Methode IV in Tab. 18). Das leicht flüchtige Äthyljodid war ganz unwirksam, ebenso das schwer flüchtige feste Hexachloräthan; das letztere zeigte auch nach 24stündigem Liegen in verschlossener Schale keinen merklichen Einfluß auf die Kleiderläuse. Äthylenbromid wirkte in einem Falle schon in 30 Minuten abtötend bei geringer Konzentration und auch Amylbromid war in einem von 2 Versuchen von bemerkenswerter Wirkung.

Diesen halogensubstituierten Kohlenwasserstoffen der Fettreihe haftet aber der Nachteil großer Schwere der Dämpfe an, wodurch ihre gleichmäßige Verteilung und ihre Anwendung in geschlossenen Räumen erschwert und beeinträchtigt wird; andererseits wirken sie weder so rasch noch so nachhaltig, daß ihre Verwendung zum persönlichen Schutz in Betracht käme. Die Angaben über ihre praktische Verwertbarkeit sind daher auch in der Literatur recht widersprechend.

Für den Schwefelkohlenstoff (s. Tab. 1, 2 und 3) gilt dasselbe. Der Erfolg im Laboratoriumsversuch ist ungleichmäßig, immerhin war in einzelnen Versuchen bei höheren Konzentrationen eine deutliche Wirkung vorhanden. Aber der häßliche Geruch der Dämpfe, ihre starke Flüchtigkeit und Feuergefährlichkeit sowie ihr hohes spezifisches Gewicht lassen die Anwendung nicht aussichtsreich erscheinen. Dem entsprechen auch die verschiedenen Beurteilungen bei der praktischen Erprobung. Daß die Wirkung des Schwefelkohlenstoffes nach 24stündigem Stehen in verschlossener Schale (Methode II, Tab. 2) ganz geschwunden ist, bedarf bei seiner Flüchtigkeit keiner besonderen Hervorhebung.

---

[1]) Bacot, A. W., Journal of hyg., Plague suppl. 3. 665. 14.
[2]) Busson, Wien. Klin. Wochenschr. 1915, 647.
[3]) Küster und Günzler, Hyg. Rundschau 25, 465, 1915.
[4]) Paul, Der Amtsarzt 17, Nr. 7/8.
[5]) Dreuw, Die Läuseplage.

Tabelle 4. Einwirkung aromatischer Kohlenwasserstoffe nach der I. Methode auf Kleiderläuse.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	40	60	75	90	120	150	180	240 Minuten	24 Std
Benzol C_6H_6 80°	1	– Ö	–	–	–	–				–	(+)	+			(+)
	3	– Ö	–	–	–	–				–	–	–			(+)
	5	– Ö	–	–	–	–				+	–	+			+
	1	–	–		–	–	–	– Ö	–	–	–	–	–		(+)
	2–4	–	–		–	–	–	– Ö	–	–	–	–	–		–
Toluol $C_6H_5CH_3$ 110°	1	–	– Ö	–	–	–		–		–	–	(+)	+		+
	3	–	– Ö	–	–	–		–		–	–	–	–		(+)
	6	–	– Ö	–	–	–		–		–	–	–	–		++
	1–4	–	–		–	–	–	– O	–	–	–	–		–	–
	1	–	–	–	–	– Ö	–	–							+
	2 u. 3	–	–	–	–	– Ö	–	–							–
Xylol $C_6H_4(CH_3)_2$ 138–42°	1–4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	1	–	–	–	–	– Ö	–	–							(+)
	2 u. 3	–	–	–	–	– Ö	–	–							–
Äthylbenzol $C_6H_5 \cdot C_2H_5$ 134°	1–4	–	–	–	–	– Ö	–	–			–	–	–		–
	1–3	–	–	–	–	– Ö	–								–
Cumol $C_6H_5 \cdot CH(CH_3)_2$ 153°	1	(+)	–	–	–	– Ö	–	–							–
	2 u. 3	–	–	–	–	– Ö	–	–							–
	1–3	–	–	–	–	–	– Ö	–		–					–
	1–3	+	–	–	–	– Ö	–	–		–	–	–	–		
Cumol techn.	1	+	(+)	–	–	– Ö	–	–							(+)
	2	–	–	–	–	– Ö	–	–							–
	3	(+)	–	–	–	– Ö	–	–							–
	1–3	–	–	–	–	–	– Ö	–		–	–				
	1–3	+	–	–	–	– Ö	–	–		–	–	–	–		
Pseudocumol $C_6H_3(CH_3)_3$ 170°	1 u. 2	(+)	–	–	–	– Ö		–							–
	3	–	–	–	–	– Ö	–	–							–
Propylbenzol $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_3$ 158°	1	++	+	+	–	–	–	–			–		–		–
	2	+	+	–	–	–	–	–			–		–		–
	3	+	–	–	–	–	–	–			–		–		–
Mesitylen $C_6H_3(CH_3)_3$ 164°	1	+++	+	–	–	–	–	– Ö			–		–		
	2	+++	+	–	–	–	–	– Ö			–		–		
	3	+++	–	–	–	–	–	– Ö			–		–		
	1	++	++	+	–	– Ö		–		–	–		–	–	
	2	+	+	(+)	–	– Ö		–		–	–		–	–	
	3	+	(+)	–	–	– Ö		–		–	–		–	–	
Cymol $C_6H_4(CH_3)(C_3H_7)$ 175°	1	++	++	+	+	+	(+)	(+)	– Ö	–	(+)	(+)	(+)	(+)	
	2	+	+	+	+	–	–	–	– Ö	–	–	–	–	–	
	3	+	–	–	–	–	–	–	– Ö	–	–	–	–	–	
	1	++	++	++	++	+	(+)	– Ö		–	–	–	–		
	2	++	++	++	+	–	–	– Ö		–	–	–	–		
	3	++	+	+	+	–	–	– Ö		–	–	–	–		
	1	++	++	++	+	–	–	– Ö		–	–		–		
	2	++	++	++	+	(+)	(+)	– Ö		–	–		–		
	3	++	+	+	+	–	–	– Ö		–	–		–		

Fortsetzung von Tabelle 4.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bzw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten	10	15	20	30	40	60	75	90	120	150	180	240	24 Std.
Naphthalin $C_{10}H_8$ 218°	1	+++	+++	++	++	+	+	(+)		—	—				—
	2	+++	+++	++	+	++	+	(+)		—	—				—
	3	+++	+++	+	++	(+)	—	—		—	—				—
	1		+++				+	—		—	—		—		—
	2		+++				+	+		—	—		—		—
	3		+++				+	—		—	—		—		—
	4		+++				+	(+)		(+)	—		—		—
	1	+++	+++	++	++	+	—	— 0		—	—		—		—
	2	++	++	++	++	+	—	— 0		—	—		—		—
	3	++	++	++	++	+	(+)	— 0		—	—		—		—
Phenanthren $C_{14}H_{10}$ 340°	1	++	++	+++	++	++	++	++		++					(+)
	3	++	++	++	++	++	+++	+		+					—
Anthracen $C_{14}H_{10}$ 351°	1		++				+	++	++		++		++		+
	3		+++				++	++	++		++		++		+
	4		+++				++	++	++		++		++		—
Acenaphthen $C_{12}H_{10}$ 277°	1	+++	+++	+++	+++	+++									+
	2	+++	+++	+++	+++	+++									(+)
	3	+++	+++	+++	+++	+++									—

Die aromatischen Kohlenwasserstoffe (s. Tab. 4, 2 und 3). Auffallend ist bei diesen Kohlenwasserstoffen der Benzolreihe, daß sie in den niederen Gliedern, dem Benzol, Toluol, Xylol und Äthylbenzol die Kleiderläuse sehr schnell betäuben, obschon ihr Siedepunkt meist höher liegt, als derjenige der viel weniger rasch wirkenden Kohlenwasserstoffe der Paraffinreihe. Dem Benzolring scheint also eine besonders starke Giftigkeit für Läuse zuzukommen.

Jedoch wirkten die von einem Tropfen Benzol entwickelten Dämpfe in 60 Minuten nicht abtötend, im gleichen Versuch auch nicht die Dämpfe aus 2 Tropfen, während sie in einem zweiten Fall schon in 20 Minuten die Läuse getötet hatten (s. Tab. 19, Versuch nach der IV. Methode). Die Wirkung ist aber auch nicht nachhaltig, sie war bei 24stündigem Stehen auch von 3 Tropfen im verschlossenen und natürlich auch im offenen Schälchen (Tab. 2 und 3) völlig verschwunden, so daß nicht einmal mehr eine nennenswerte Beeinträchtigung der Bewegung der Läuse zu beobachten war. Das gleiche gilt auch für Toluol und Xylol, höhere Konzentrationen wirkten immer ziemlich gut, niedere in einzelnen Versuchen rascher, in anderen langsamer, immer aber war nach 24stündigem Stehen auch bei bedeckten Schälchen die Wirkung verloren. Eine sichere Wirkung ist also bei diesen Kohlenwasserstoffen nur bei Verwendung größerer Mengen und in längerer Zeit, nicht aber für den persönlichen Schutz oder bei der Möglichkeit der Verflüchtigung zu erwarten.

Günstiger ist die Wirkung der höher siedenden Kohlenwasserstoffe der Benzolreihe, namentlich der Cumole. Die Betäubung erfolgt etwas langsamer, immerhin

aber in 5 Minuten, aber schon nach 30—40 Minuten währender Einwirkung erwiesen sich die Läuse in fast allen Versuchen abgetötet (s. auch einen Versuch nach Methode IV in Tab. 18). Besonders hervorzuheben ist bei diesen Verbindungen, daß ihre Wirkung nach 24stündigem Stehen in verschlossenen Schälchen nicht zurückgegangen, sondern eher stärker geworden ist (Methode II, Tabelle 2). In offenen Schälchen geht sie freilich in dieser Zeit ebenfalls verloren (Methode III, Tabelle 3). Das angewandte technische weniger reine Cumolpräparat wirkte etwas weniger günstig. Propylbenzol und Mesitylen zeigten ein dem Cumol ähnliches Verhalten, das Cymol betäubte noch langsamer, wirkte aber auch in 60—75 Minuten fast durchweg abtötend; Vorzüge haben diese Stoffe aber vor dem Cumol nicht gezeigt.

Aus dieser Reihe scheint daher das Cumol für die Entlausung von Gegenständen in geschlossenen Behältern besonders brauchbar, wenn bei jedem einzelnen Stück durch sorgfältiges Bespritzen für eine gleichmäßige Verteilung der Dämpfe Sorge getragen wird.

Beim Naphthalin (siehe Tabelle 4), das eine neue Reihe aromatischer Kohlenwasserstoffe eröffnet, zeigte sich Narkose erst bei 40—90 Minuten dauerndem Kontakt mit den Läusen, doch war mit dem Stillstand der Bewegung nach dieser Zeit auch Abtötung eingetreten. Die Wirkung des Naphthalins trat aber abweichend von der der bisher genannten Verbindungen auch nach 24stündigem Liegen selbst kleiner Mengen in den Schälchen erheblich schneller ein und zwar nicht nur in Schälchen mit aufgesetztem Deckel (Methode II), sondern auch in solchen, die während dieser Zeit offen gestanden hatten (Methode III). Diese Erscheinung beruht darauf, daß das Naphthalin im Vergleich mit den bisher genannten Verbindungen viel weniger flüchtig ist. Es braucht daher einige Zeit, um von der festen in die Dampfform überzugehen und erfüllt so die Schälchen nur langsam mit seinem Dampf. Die anderen aromatischen Kohlenwasserstoffe haben schon bei gewöhnlicher Temperatur einen erheblichen Dampfdruck und wirken deshalb ziemlich schnell betäubend. Die geringe Flüchtigkeit des Naphthalins bewirkt dagegen, daß die tötende Kraft seiner Dämpfe auch bei offenem Stehen an der Luft nur langsam verloren geht.

Nach diesen Laboratoriumsversuchen würde das Naphthalin also ganz besonders zum persönlichen Schutz gegen eine dauernde Verlausung und zur Freihaltung offen liegender Gegenstände sowie zur Anwendung bei Möbeln, Ritzen in den Fußböden, bei Strohsäcken und ähnlichem geeignet erscheinen. Welche Anwendungsform im einzelnen Fall die zweckmäßigste ist, muß durch die praktische Erprobung ermittelt werden. Über die Unzweckmäßigkeit des Tragens von Naphthalin und ähnlich wirkenden Mitteln in Säckchen auf der Brust, ist in der Einleitung schon gesprochen.

Zur Entlausung von Wäsche und Kleidern und zu ihrer Freihaltung von Läusen müßte das Naphthalin sorgfältig zwischen die Stücke eingestreut und in besonders großer Menge an den höchstgelegenen Stellen untergebracht werden. Je höher die Temperatur ist, desto rascher entfaltet das Naphthalin, dem höheren Dampfdruck entsprechend seine Wirkung, wie auch andere Mittel, vor denen es aber den Vorzug hat, daß seine Flüchtigkeit auch bei Körpertemperatur noch nicht so stark ist, daß

Tabelle 5. Einwirkung von halogensubstituierten aromatischen Kohlenwasserstoffen auf Kleiderläuse nach Methode I.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bzw. Tropfenzahl	Zustand nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	40	60	75	90	120	150	180	240	360	24
		Minuten														St.
Chlorbenzol C_6H_5Cl	1—3	—	—	—	—	—Ö	—	—		—	—	—	—	—		
132°	1	+	—	—	—	—	—Ö	—		—	—					
	2 u. 3	—	—	—	—	—	—Ö	—		—	—					
	1—3	—	—	—Ö	—	—	—	—		—	—					—
Brombenzol C_6H_5Br	1	+	—	—	—	—Ö	—	—	—	—	—	—	—	—		
155°	2 u. 3	—	—	—	—	—Ö	—	—	—	—	—	—	—	—		
	1—3	—	—	—Ö	—	—	—	—		—						—
Jodbenzol C_6H_5J	1	+	(+)	—Ö	—	—	—	—		—	—	—	—	—		
188°	2 u. 3	—	—	—Ö	—	—	—	—		—	—	—	—	—		
ortho-Dichlorbenzol	1	(+)	—	—	—	—Ö	—	—	—	—	—		—	—	—	
$C_6H_4Cl_2$ (flüssig)	2 u. 3	—	—	—	—	—Ö	—	—	—	—	—		—	—	—	
179°	1 u. 2	+	—	—	—	—	—Ö	—		—	—					
	3	(+)	—	—	—	—	—Ö	—		—	—					
	1	—	—	—Ö	—	—	—	—		—						—
	2	—	—	—Ö	—	—	—	—		—						(+)
	3	—	—	—Ö	—	—	—	—		—						—
para Dichlorbenzol	1	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	(+)	—	—	—Ö	—	(+)	(+)	(+)	(+)	
$C_6H_4Cl_2$ (fest)	2	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	—	—	—	—Ö	—	—	—	—	—	
172°	3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	(+)	—	—	—Ö	—	—	(+)	(+)	+	
	1	+ + +	+ +	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)							
	2	+ + +	+	(+)	—	—	—Ö	—	—							
	3	+ + +	+	—	—	—	—Ö	—	—							
	2	+	(+)	(+)	(+)	—	—Ö	—	(+)	(+)						(+)
	4	+	—	—	—	—	—Ö	—	—	—						—
	6	+	(+)	(+)	(+)	—	—Ö	—	—	—						(+)
	1	+		—	—	—	—	—		—Ö	—		—			—
	2	+	(+)	—	—	—	—	—		—Ö	—		—			—
	3	+	(+)	—	—	—	—	—		—Ö	—		—			—
para Dibrombenzol	1	+ +	+	+	+ +	+	+	(+)		(+)						—
$C_6H_4Br_2$ (fest)	3	+ +	+ +	+	+	(+)	(+)	+		(+)						—
219°	1	+ +	+	+	+	(+)	—	—		—	—					
	2	+	+	+	+ +	(+)	(+)	(+)		—	—		—			
	3	+ +	+	+	+	(+)	(+)	—		—	.		—			
para Chlortoluol	1—3	—	—	—	—	—Ö	—	—	—	—	—	—	—	—		
$C_6H_4Cl \cdot CH_3$ 163°	1		—	—Ö	—	—	—	—								(+)
	2		—	—Ö		—	—	—								—
para Bromtoluol	1	+ + +	(+)	—	—	—Ö	—	—								+
$C_6H_4Br \cdot CH_3$	2 u. 3	—	—	—	—	—Ö	—	—								—
184°	1	+ + +	+ +	+	(+)	—	—	—		—						—
	2	+ +	+	+	(+)	—	—	—		—						(+)
	3	+	—	—	—	—	—	—								—
Benzylchlorid	1—3	—	—	—	—	—Ö	—	—								
$C_6H_5 \cdot CH_2Cl$ 176°	1	+	—	—	—	—	—Ö	—		—						
	2 u. 3	(+)	—	—	—	—	—Ö	—		—						
	1—3	—	—	—Ö	—	—	—	—		—	—					
Benzalchlorid	1 u. 2	+ +	+ +	+	—		—	—	—	—			—			
$C_6H_5 \cdot CHCl_2$	3	+ +	+	—			—	—	—	—			—			
213°	4	+	+	(+)	—			—	—	—						
	1	+	(+)	—	—	—Ö	—	—		—						
	2	+	(+)	(+)	—	—Ö	—	—		—						
	3	+	(+)	—		—Ö	—	—		—						
α-Bromstyrol	1	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—Ö		(+)	(+)	—	—			
$C_6H_5CBr \cdot CH_2$	2	+	+ +	+ +	+		—	—Ö		—	—	—	—			
150—160°	3	+ +	+	+	+		—	—Ö		—	—	—	—			
Bromnaphthalin	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ + +	+ +	+ +	+ +								
$C_{10}H_7Br$ 281°	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+								
	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+	+	[illegible]	(+)								

Tabelle 6. Wirkung von Alkoholen, Äthern, Aldehyden, Ketonen auf Kleiderläuse nach der Methode I.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- und Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	25	30	40	50	60	75	90	120	150	180	240	24 Std.
		Minuten															
Methylalkohol CH_3OH 67°	1		++	++	+		+	(+)		+		(+)	+	+	+		
	2		++	+	+		(+)	—		—		—	—	—	—		
	3		++	(+)	—		—	—		—		—	—	—	—		
Äthylalkohol $CH_3 \cdot CH_2OH$ 78°	1	++		—			(+)			+		+	+				
	2 u. 3	+		—			—			—		—	—				
	1	++	++	++	+		(+)	—		(+)		—	—		—		
	2	++	++	++	+		(+)	—		—		—	—		—		
	3	+	+	+	(+)		—	—		—		—	—		—		
Iso-Amylalkohol $C_5H_{12}O$ 132°	1	++	+	(+)	—		—										
	2	+	—	—	—		—										
	3	+	—	—	—		—										
	4	++	++	+	—		—										
	1	++		++	(+)		—	+	—	— ő	—	—	—			—	—
	2	++		+	(+)		(+)	—	—	— ő	—	—	—			—	—
	3	++		+	—		—	—	—	— ő	—	—	—			—	—
	4	++		—	—		—	—	—	— ő	—	—	—			—	—
Äthyläther $C_2H_5 \cdot O \cdot C_2H_5$ 35°	1	+	+	++	(+)	(+)	+	—	+	++		++	(+)				+
	2	—	+	(+)	+	+	+	(+)	+	+		+	+				+
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++				(+)
	4	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++	+++				++
	5	+	+	(+)	—	+	(+)	(+)	+	+		(+)	+				+
	1	—	—	—			—	—	—	+	+	++	++	+++		+	+
	2	—	—	—			—	(+)	+	+	+	+	++	+++		++	++
	3	—	—	—			—	—	—	—	(+)	+	++	++		++	++
	4	—	—	—			—	—	—	—	—	—	—	—		—	—
	1	—	—	—	—		—	++					+				+
	2	—	—	—	(+)		—	++					++				(+)
	3	—	—	—	—		—	+					+				+

Trichloräther $CHCl_2 \cdot CHCl \cdot O \cdot C_2H_5$ 157°	1	+ +	+	+	(+)		—	—		— ö			—		—		—
	2	+ + +	+ +	+	—		—	—		— ö			—		—		—
	3	+	—	—	—		—	—		— ö			—		—		—
Aceton $CH_3 \cdot CO \cdot CH_3$ 56°	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+			(+)	(+)	(+)	(+)		+		+
	3	(+)	—	+	+	+	+			+	(+)	(+)	(+)		+ +		+
	5	—	—	—	—	—	—			—	—	—	—		—		—
Trioxymethylen (Paraform)	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +		+ +	+ +				+
	1	(+)	+	+ +			+ +			+		+ +	+ +				+
	3	(+)	+	(+)			(+)			(+)		+	+ + +				+ +
	5	+ +	+ +	—			(+)			(+)		—	+ +				+
Methylal = Methylendimethyläther $CH_2(OCH_3)_2$ 42°	1	+ +	+	+	+ +		+ +	+ +		+			+		+ +		+
	2	+	+	+	+		+	+		(+)			+		+		+
	3	+	—	—	—		—	—		—			(+)		(+)		+
Önanthaldehyd $CH_3 \cdot (CH_2)_5 CHO$ 44°	1	+ + +	+ + +	+ +	+ +		+ +	+ + +		+ + +			+ + +		+ + +		+
	3	+ + +	+ +	+ +	+ +		+ +	+		+			+		+		—
Benzyläthyläther $C_6H_5CH_2 \cdot O \cdot C_2H_5$ 185°	1	+ + +	+ +	(+)	—	—	— ö		—								+
	2 u. 3	+	+	—	—	—	— ö		—								—
	1—3	+	—	—	—	—	— ö	—	—	—							—
Diphenyläther $C_6H_5OC_6H_5$	1 u. 2	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+		+		+	+				—
	3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+		+		(+)	—				—
Zimtalkohol $C_6H_5CH:CH \cdot CH_2OH$ 250°	1	+ +		+ +	+ +		(+)		(+)	(+)		(+)	—				
	2	+		(+)	(+)		(+)		(+)	—		—	—				
	3	+ +		(+)	—		—		—	—		—	—				
Salizylaldehyd $C_6H_4(OH)CHO$ 196°	1 u. 2	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—						—[1]
	3 u. 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—						—
	1 u. 2	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—						—[2]
	3	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—						—
	1—3	+ +	(+)	(+)	—	—	— ö	—	—	—	—	—	—				—
Anisaldehyd $C_6H_4(OCH_3) \cdot CHO$ 248°	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+		—	—[3]
	2 u. 3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	(+)	(+)	—	—		—	—
	4	+ +	+ + +	+ + +	+ +	(+)	+	—	—	—	—	—	—	—		—	—
Zimtaldehyd $C_6H_5CH:CH \cdot CHO$ 220°	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	+		—	—
	2 u. 3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	(+)	—	—		—	—[4]
	4	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—
Bromsalizylaldehyd $C_6H_3Br(OH)CHO$	1	+ +	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	(+)	(+)	
	2 u. 3	+ +	+ +	+	+		+	+	+	+		(+)	(+)	(+)	—	—	

[1] Unter Gelbfärbung der Läuse. — [2] Desgl. — [3] Die Läuse fliehen die Läppchen. — [4] Desgl.

die Wirkung rasch nachläßt. Vor den meisten anderen Stoffen hat es zudem den Vorteil großer Billigkeit.

Die höheren mehrkernigen Kohlenwasserstoffe, das Acenaphthen, Phenanthren und Anthracen sind sehr wenig flüchtig und wirken selbst bei 24stündigem Kontakt nicht sicher abtötend auf die Läuse. Die Wirkung wird auch durch 24stündiges Liegen in den Schälchen vor der Zugabe der Läuse (Methode II) nicht wesentlich verstärkt.

Halogensubstituierte aromatische Kohlenwasserstoffe (Tabellen 5, 2 und 3). Die monohalogensubstituierten Benzole, das Chlor-, Brom- und Jodbenzol, machen, ähnlich wie das Benzol, die Läuse schnell bewegungslos. Durch den Eintritt des Halogens ist aber die Giftigkeit noch wesentlich erhöht, so daß Abtötung der Läuse schon nach 15—40 Minuten festzustellen war. Die Wirkung erhielt sich jedoch gleichfalls nicht bei 24stündigen Stehen der verschlossenen Schälchen.

Von den beiden Dichlorbenzolen, dem ortho- und dem para-Isomeren, wirkte das erstere flüssige wesentlich schneller betäubend und auch abtötend auf Läuse als das zweite feste, nämlich in 30—40 Minuten, noch nicht sicher in 15 Minuten. Dagegen war die Wirkung des para-Dichlorbenzol sehr ungleichmäßig, in einzelnen Fällen war nicht einmal nach 90 Minuten Abtötung eingetreten. Sein Abtötungsvermögen ging bei 24stündigem Liegen in verschlossenen Schälchen verloren, während das des ortho-Isomeren sich noch gut erhalten hatte; ein 24stündiges Liegen in offenem Schälchen überdauert die Wirkung beider Verbindungen jedoch nicht. Auf eine Verwertbarkeit des allerdings nicht unwidersprochen, zur Läusebekämpfung empfohlenen para-Dichlorbenzol in der Praxis lassen also diese Laboratoriumsversuche nicht schließen.

Das para-Dibrombenzol war von geringer Wirkung auf Läuse; bei 24stündigem Liegen in offenen Schälchen erhöht sie sich allerdings etwas.

Chlortoluol hatte in einem Falle Abtötung in 30 Minuten erreicht, in einem anderen bei 2 Tropfen schon in 15 Minuten. Das Bromtoluol dagegen erwies sich von sehr ungleichmäßiger Wirkung.

Benzylchlorid zeigte rasche Betäubung und auch Abtötung in 15—40 Minuten. Das Benzalchlorid machte die Läuse langsamer bewegungslos, tötete sie aber gleichfalls in verhältnismäßig kurzer Zeit. Die Wirkung beider Präparate erhielt sich in verschlossenen Schalen nach 24 Stunden noch sehr kräftig (Tabelle 2), nicht dagegen in den offenen Schälchen (Tabelle 3).

Bromnaphthalin hatte bei den Versuchen sowohl nach Methode I als nach Methode II eine viel geringere Wirkung als das unsubstituierte Naphthalin.

Von den halogensubstituierten Kohlenwasserstoffen der Benzolreihe zeichnen sich somit mehrere durch ein recht erhebliches Betäubungs- und Abtötungsvermögen gegenüber Kleiderläusen aus, so vor allem das Chlor-, Brom- und Jod-, ferner das ortho-Dichlorbenzol, Benzyl- und Benzalchlorid. Die Wirkung bleibt bei beschränktem Luftwechsel (Methode II) am besten erhalten beim ortho-Dichlorbenzol, Benzyl- und Benzalchlorid, sie schwindet aber auch bei diesen Stoffen bei offenem Liegen der behandelten Läppchen an der Luft (Methode III). Die genannten

Verbindungen aus dieser Reihe würden sich demnach für eine Entlausung in abgeschlossenen Behältern recht gut eignen, dagegen nicht zum persönlichen Schutz am Krankenbett oder gegen dauernde Verlausung. Das para-Dichlorbenzol zeigte in diesen Versuchen eine durchaus unbefriedigende Wirkung.

Alkohole, Aldehyde, Ketone (s. Tabellen 6, 2 und 3). Methyl- und Äthylalkohol betäubten und töteten Läuse nur langsam. Beim Liegen der damit behandelten Zeugstückchen an der Luft verlor sich natürlich die Wirkung sehr schnell. Kräftiger wirkte Amylalkohol, indem er schon bei Zusatz eines Tropfens in 60 Minuten abtötete und bei 2 Tropfen in 40 Minuten (nach Methode IV, s. Tab. 19). Zimtalkohol hatte nur schwachen Einfluß.

Sehr ungleichmäßig erwies sich das Betäubungs- und Tötungsvermögen des Äthyläthers; in einzelnen Versuchsreihen wurde nicht einmal Bewegungslosigkeit der Läuse beobachtet, in anderen trat sie ein, ging aber rasch wieder vorüber. Eine Abtötung wurde nur ganz ausnahmsweise im Lauf von 24 Stunden erzielt. Der Äther zeigt somit eine ähnliche Wirkung wie sie sich in diesen Versuchen bei allen leicht flüchtigen Stoffen, dem Benzin, Chloroform und Schwefelkohlenstoff ergeben hatte. Die Wirksamkeit dieser Stoffe ist danach so wenig sicher, daß ihre Anwendung nicht empfohlen werden kann. Allein der sogenannte Trichloräther tötete Läuse wenigstens bei 60 Minuten dauernder Einwirkung und behielt diese Wirkung auch in dem Versuch nach der II. Methode bei (Tabelle 2).

Aceton wirkte nur in relativ hoher Konzentration, Methylal und das Kondensationsprodukt des Formaldehyds, das Trioxymethylen, waren wirkungslos auch nach 24stündigem Stehen in verschlossenen und offenen Schälchen (Tab. 2 und 3).

Schnelle Betäubung und Abtötung war bei Salizyladehyd zu beobachten, dessen Dämpfe die Läuse gelb färbten. Auch nach 24stündigem Liegen der damit imprägnierten Läppchen in geschlossenen Schälchen (Methode II) trat die Abtötung noch nach derselben Zeit, nämlich in 30 Minuten ein, dagegen ging beim Liegen an offener Luft die Wirkung verloren (Methode III, Tab. 8 und 9).

Schwach war die betäubende und tötende Kraft des Önanth-, Anis-, Zimt- und Bromsalizyladehyds.

Die Wirkung des Trichloräthers und Salizylaldehyds ist bemerkenswert, aber nicht kräftig genug, um zu einer praktischen Erprobung der Mittel Anlaß zu geben. Der Anwendung des Trichloräthers steht vor allem auch schon sein stechender Geruch im Wege.

Phenole (s. Tabellen 7, 8 und 9). Sehr intensiv und meist auch sehr nachhaltig ist der Einfluß der niederen Phenole auf Läuse. Namentlich die 3 isomeren Kresole, ebenso wie das Arzneibuchkresol betäuben Läuse, schon bei kleinen Dosen in 5—10 Minuten und töten sie in 10 bis längstens 30 Minuten (s. auch einen Versuch nach Methode IV in Tabelle 18) und zwar auch dann, wenn die Schälchen 24 Stunden lang verschlossen oder offen gestanden haben (Methode II und III, Tabellen 8 und 9). Die Läuse fliehen sichtlich die mit den Kresolen betupften Läppchen und färben sich bei der Abtötung rot. Nach dieser sehr kräftigen Wirkung erscheint auch eine praktische Anwendung dieser Mittel aussichtsvoll. Sie wird aber erschwert

Tabelle 7. Einwirkung von Phenolen, Halogenphenolen und Phenoläthern auf Kleiderläuse nach Methode I.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Zustand nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	25	30	40	50	60	75	90	120	150	180	240	360 Minuten	24 St.
ortho-Kresol	1 u. 2	+	+	—	—Ö		—	—		—		—	—	—	—			
$C_6H_4OH(CH_3)$ 188°	3	(+)	—	—	—Ö		—	—		—		—	—	—	—			
para-Kresol 198°	1	++	(+)	(+)	(+)		—Ö	—		—		—	—	—	—			
	2	++	(+)	—	—		—Ö	—		—		—	—	—	—			
	3	+	—	—	—		—Ö	—		—		—	—	—	—			
meta-Kresol 201° [1]	1	+	+	—	—Ö		—	—		—		—	—	—	—			
	2	—	—	—	—Ö		—	—		—		—	—	—	—			
	3	+	—	—	—Ö		—	—		—		—	—	—	—			
	1	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—
	2	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—
	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—
	1	++	+	—	—	—	—Ö	—		—		—						—
	2	++	—	—	—	—	—Ö	—		—		—						—
	3	+	—	—	—	—	—Ö	—		—		—						—
Cresolum crudum	1	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			—
(DAB5)	2	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			—
	3 u. 4	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			—
	1 u. 2	++	+	—	—		—Ö	—		—		—	—	—	—			
	3	+	—	—	—		—Ö	—		—		—	—	—	—			
meta-Xylenol (1:3:4)	1	+++		+		—	—	—	—	—								—
$C_6H_3 \cdot OH(CH_3)_2$	2	++		—	—	—	—	—	—	—								—
(flüssig) 211°	3 u. 4	++		—	—	—	—	—	—	—								—
	1	+	—	—	—	—	—O	—	—	—								—
	2 u. 3	—	—	—	—	—	—Ö	—	—	—								—
	1	+	—	—	—		—	—Ö		—		—	—	—				
	2 u. 3	—	—	—	—		—	—Ö		—		—	—					
Xylenol (1 : 2 : 4)	1	+++	+++	+++			+++			++		+	(+)					
(fest) 225°	2	+++	++	+			++			+		+	(+)					
	1 u. 2	++	+	++	+		++	++		+		(+)	—	—				
	3	+	+	++	+		++	+		+		(+)	(+)	—				
	1	+++	++		++		++	+		(+)		—	—Ö			—	—	(+)
	2	++	++		++		+	+		(+)		—	—Ö			—	—	—
	3	++	++		+		+	+		—		—	—Ö			—	—	(+)
Xylenol (1 : 4 . 5)	1	+++	++	+			—			—		—	—					
211°	2	++	+	—			—			—		—	—					
	1	++	++	++	++		+	—Ö		—		—	—					
	3	++	+	+	+		(+)	—Ö		—		—	—					
	1			—			—	—		—Ö		—	—			—	(+)	(+)
	2			+				—		—Ö		—	—			—	(+)	—
	3			(+)			—	—		—Ö		—	—			—	—	—
Symmetrisches	1	++	+	+	+		+	+		(+)		—						—
Xylenol (1 : 3 : 5)	2	+	+	+	—		—	(+)		—		—						—
219°	3	+	+	(+)	—		—	—		—		—						—
Cumenol	1	+++	++		++		++	++		++		++	+					
$C_6H_2 \cdot OH \cdot (CH_3)_3$	2	+++	++		++		++	+		+		—	—					
232°	3	++	++		+		+	+		+		—	—					

[1] Rotfärbung der abgetöteten Läuse durch Kresol. Die Läuse fliehen das mit Kresol betupfte bezw. bestreute Läppchen.

Fortsetzung von Tabelle 7.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Zustand nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	25	30	40	50	60	75	90	120	150	180	240	24
		Minuten															St.
Thymol = Methyl-	1	++	+	(+)	(+)		(+)	—		—		—					
isopropylphenol	2 u. 3	++	+	(+)	(+)		(+)	—		—		—					
$C_6H_3(OH)(CH_3)(C_3H_7)$	4	++	+	(+)	—		—	—		—		—					
230° [1]	1	+++		+++			+		(+)	(+)	—	—	—				—
	2	++		+++			++		(+)	+	(+)	—	—				—
	4	+++		+++			+		(+)	(+)	(+)	—	—				—
	1	++	++	++	++		++	++		+		(+)					
	3	++	++	++	++		+	+		—		(+)					
	1	++	+++	++	++		++	++		+		(+)	—		—		
	2	+	+	++	++		+	+		(+)		—	—		—		
	3	++	+	++	++		+	+		(+)		(+)	—		—		
Carvacrol = Methyl-	1	++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	+	—	—	—	—		—
isopropylphenol	2	+	+	++	+++	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	—	—	—		—
$C_6H_3(OH)(CH_3)(C_3H_7)$	3	++	++	+++	+	++	++	+	(+)	—	(+)	(+)	—	—	—		—
236°	4	++	++	+++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—		—
	1	+	++	++	++		+	+		(+)		—	—				
	2	++	+	+	+		+	(+)		—		—	—				
	3	+	+	+	+		+	—		—		—	—				
Phlorol (Äthyl	1	+	(+)	(+)	—		—	— Ö		—		—	—	—			
phenole)	2 u. 3	+	—	—	—		—	— Ö		—		—	—	—			
$C_6H_4(OH)(C_2H_5)$	1	+++	(+)	—	— Ö		—	—		—		—					—
206° [2]	2 u. 3	+	—	—	— Ö		—	—		—		—					—
	1—4	++	+	(+)	—		—	—		—		—	—	—			—
Phenolgemisch	1	+	+	—	—		—	—		—		—					
200—210°	2	—	—	—	—		—	—		—		—					
210—220°	1	+	(+)	+	+		(+)	—		—		—					
	2	++	+	—	—		—	—		—		—					
	3	+	+	(+)	(+)		—	—		—		—					
220—230°	1	++	++	+	+		++	—		—		—					
	2 u. 3	+	+	—	—		—	—		—		—					
Orcin = Dioxytoluol $C_6H_3\cdot(OH)_2\cdot CH_3$ (fest) 289°	1—3	+++	++	++	++		++	++		++		++	++				+
Phloroglucin (fest) $C_6H_3(OH)_3$	1—3	+++	++	++	++		++	++		++		++	++				+
beta-Naphtol	1—3	+++	+++	+++	+++		++	++		++		++	+	+			
$C_{10}H_7\cdot OH$ 286°	1—3	+++	+++	++	++		++	++		++		++	++		+		
Oxychinolin	1	++	+++	++	++		+	+		++		++	++		+		
$(C_9H_6N)OH$ 199°	2 u. 3	+++	+++	++	++		++	+		+		+	+		—		
	1 u. 2	++	++	++	++		++	++		++							—
	3	++	++	++	++		++	++		++							(+)
para-Chlorphenol	1	++	++	—	—		— Ö	—		—		—	—		—	—	
$C_6H_4Cl\cdot OH$ 217°	2 u. 3	+	—	—	—		— Ö	—		—		—	—		—	—	
	1	++	++	+	+		—	—		—		—					—
	2	++	+	—	—		—	—		—		—					—
	3 u. 4	—	—	—	—		—	—		—		—					—
	1—3	—	—	—	—		— Ö	—		—		—	—				—
	1	+++	++	+	+		—	— Ö		—		—	—	—			
	2 u. 3	++	+	(+)	—		—	— Ö		—		—	—	—			

[1] Die Läuse fliehen die bestreuten Stellen [2] Rotbraunfärbung der toten Läuse.

2. Fortsetzung von Tabelle 7.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Zustand nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	40	50	60	75	90	120	150	180	240	360	24
		Minuten															St.
para-Bromphenol	1—3	+++	++	(+)	—	— 0	—		—		—						—
$C_6H_4Br \cdot OH$ 238°	1—3	++	++	++	+	+	(+)		— Ö		—	—	—	—	—		
	1 u. 2	+++	+++	++	++	+	+		(+)		—	—					
	3	++	++	+	—	—	—		—		—	—					
	1 u. 2		+++	+++	++	++	+		+		+	(+)			—	—	—
	3		+	(+)	(+)	—	—		—		—	—				—	—
Trichlorphenol $C_6H_2Cl_3 \cdot OH$	1—3	+++	+++	+++	+++	+++	+++		++		++						(+)
Tribromphenol	1—3	+++	+++	+++	+++	+++	++		++		++						—
Chlor-meta-Kresol	1 u. 2	++	++	++	+	+	+		— Ö		—	—		—			
$C_6H_3Cl(CH_3) \cdot OH$	3	++	(+)	(+)	(+)	—	—		— Ö		—	—					
195°	1	++	++	+	+	(+)	(+)		(+)		—	—					
	2	++	+	+	(+)	(+)	—		—		—	—					
	3	+	+	+		—	—		—		—	—					
	1—3	+++	+++	++	+	+	(+)		—		—	—		—	—	—	—
Chlorxylenol	1—3	+++	+++	++	+	++	++		++		++	+			+		
$C_6H_2Cl(CH_3)_2 \cdot OH$	1—3	++	++		+	++	++		+		+	+		+			+
Kreolin	1—4	++	+	+		—	—										—
	1	++	++	+	+	(+)	—		— Ö		—	—		—	—		
	2 u. 3	+	+	—	—	—	—		— Ö		—	—		—	—		
Anisol = Methylphenoläther	1—3	—		—	—	— Ö	—		—		—	—		—			
	1 u. 2	—	Ö	—		—	—					—					(+)
$C_6H_5OCH_3$ 152°	3		— Ö	—	—	—	—		—		—	—					—
	1	—	—	— Ö	—	—	—		—		—		—	(+)	+		
	2 u. 3	—	—	— Ö	—	—	—		—		—	—	—	—	—		
Phenetol = Äthylphenyläther	1—3	+	—	—	—	—	—		—		—	— Ö		—	—		
	1	++	+++	—		—	—		—								—
$C_6H_5OC_2H_5$ 172°	2 u. 3	++	+	—		—	—		—								—
	1	+++	+++	+	(+)	—	—		—								—
	2 u. 3	++	++	—	—	—	—										—
	1—3		—	—	— 0	—	—		—		—	—					
Diphenyläther (fest)	1	++	++		++	++	++					+	+				—
$C_6H_5OC_6H_5$ 252°	2	++	++		+	+	+					(+)	—				—
	3	++	+		+	+	+					—	—				—
para-Kresolmethyläther	1	++	(+)	—	—	—	—		—								—
	2—4	·		—	—	—			—								—
$C_6H_4(CH_3)OCH_3$	1—3	—	—	—	—	—	—		—								—
175°	1	+	(+)	—	—	— Ö	—		—		—						(+)
	2—3			—	—	— Ö	—										+
	1 u. 2	+	—	—	—	— Ö			—								—
	3		—			— Ö	—		—								—
meta-Kresolmethyläther 177°	1 u. 2	+	+	—	—	— Ö	—		—		—	—	—				
	3	—	—	—		Ö			—		—	—	—				
Thymolmethyläther 232°	1—3	++	++	++	++	++	+		(+)	(+)	(+)						—
Anethol = Methyläther	1 u. 2	++	+++	++	++	++	++		+	+	+						—
des Propenylphenols	3 u. 4	+++	+++	+++	++	+	—		—	—	—						—
232°	1—3	++	++	+	++	+	+		(+)	+	—	—					

3. Fortsetzung von Tabelle 7.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Zustand nach einer Einwirkung von 5 Minuten	10	15	20	30	40	50	60	90	120	150	180	240	360	24 St.
Veratrol = Brenzka-	1 u. 2		++	++	+	(+)	—		—	—						—
techindimethyläther	3 u. 4		+	+	—	—	—		—	—						—
$C_6H_4(OCH_3)_2$ 205°	1—3	+++	++	+	—	— Ö	—		—	—	(+)					—
	1	++	++	++	++	+	(+)		—	—	—					
	2 u. 3	++	+	(+)	(+)	—	—		—	—	—					
Brenzkatechinäthyl-	1	+++	+++	(+)	—	—	—		—							—
äther	2 u. 3	+++	++++	—	—	—	—		—							—
$C_6H_4(OC_2H_5) \cdot OH$	1 u. 2	++	—	—	—	— Ö	—		—	—	—		—	—		
240°	3	—	—	—	—	— Ö	—		—	—	—		—	—		
	1 u. 2	+++	+	+	—	— Ö	—		—	—						—
	3	++	—	—	—	— Ö	—		—	—						—
Kreosol	1—3	++	(+)	(+)	—	—	— Ö	—								—
$C_6H_3(CH_3) \cdot OH \cdot (OCH_3)$	1—3	+++	+++	+++	+	—		—								—
(Homobrenzkatechin-	1—3	+++	+++	+++	+	—	—	—	—							—
methyläther) 221°	4	+	+	(+)	—	—	—	—	—							—
Guajakol = Brenz-	1—3	++	+	(+)	(+)	(+) Ö	—		—	—	—	—	—			
katechinmono-	1—3	++	++	++	—	— Ö	—		—	—	—	—	—			
methyläther	1 u. 2	++	(+)	(+)	(+)	—	—		—							
$C_6H_4(OCH_3) \cdot OH$	1 u. 2		(+)	(+)	—	—	—		—	—	—		—	—	—	—
250°	3		—	—	—	—	—		—	—	—		—	—	—	—
	1—3	+:+	++	+	—	—	—		—	—	—					—
Eugenol	1	++	++	++	++	++	+		(+)	— Ö	—		—	—		
$C_6H_3(CH_2CH:CH_2)$	2 u. 3	++	++	++	++	+	—		—	— Ö	—		—			
$OCH_3) \cdot OH$ 247°	1—4	++	++	++	(+)	—	—		—	—	—		—			
	1		+++	+++	++	++	+		—	—	—		—	—		—
	2 u. 3		++	++	+	+	—		—	—	—		—	—		—
	4		++	++	—	—	—		—	—	—		—	—		—
	1	++	+	+	+	+	+		+	—	—					—
	2	+++	++	++	+	+	—		—	—	—					—
	3	+++	+	+	—	—	—		—	—	—					—
Eugenolmethyläther $C_6H_3(CH_2 \cdot CH:CH_2)(OCH_3)_2$ 244°	1—3	++	+++	++	++	++	++		+							—
Resorzindiäthyl-	1	+++	++	++	++	++	++		++		+		+			—
äther $C_6H_4(OC_2H_5)_2$	2 u. 3	+++	++	+	+	++	+		(+)		—		—			—
	1—3	+++	+++	++	++	++	++		++							
Naphtholmethyläther (Nerolin) $C_{10}H_7OCH_3$ 274°	1—3		++	++	++	++	++		++							—
Naphtholäthyläther	1—3		++	++	++	++	++		++							—
$C_{10}H_7 \cdot OC_2H_5$ 277°	1	+++	++	+	+++	+++	+++		+++							(+)
	2 u. 3	+++	+++	+++	+++	+++	+++		+++							—

Tabelle 8. Wirkung von Phenolen, Halogenphenolen, Phenoläthern, Estern, Aminen und Aldehyden auf Kleiderläuse nach Methode II.

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 10	20	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360	420	24 Std.
		Minuten														
Kresol	1—3	—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
meta-Xylenol	1—3	—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
	1—3	—	—	— Ö	—	—		—	—	—	—	—				
1. 4. 5-Xylenol	1—3	(+)	(+)	(+) Ö	—	—	—	—	—	—	—	—				
1. 2. 4 Xylenol	1—3	(+)	(+)	(+)	—	Ö	—	—	—	—	—	—				
symmetr. Xylenol	1—3		—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Phlorol	1—3	—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
	1—3	—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
Thymol	1	+ + +	+ +	+ +	+	+	—		— Ö		—	—				
	2	+	+	(+)	—	—	—		— Ö		—	—				
	3	+ + +	+	—	—	—	—		— Ö		—					
Carvacrol	1—3	+ +	(+)	—	—	—			—		—	—				
	1—3	(+)	(+)	(+)	—	— Ö		—	—		—	—				
Cumenol	1—3	+ +	+	+	(+)	(+)		(+)	(+)		—	—				
Orcin	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +		+	+		+ +	+ +	
Ploroglucin	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +		+ +	+ ! +		+ + +			+ +	+	
para-Chlorphenol	1—3	—	—	— Ö	—	—		—	—		—	—				
Bromphenol	1—3	+	—	— Ö	—	—		—	—		—	—				
Chlormetakresol	1—3	+	(+)	—	—	—		—	— Ö		—	—				
	1	+ + +	(+)	(+)	(+)	—		—	—		—	—				
	2 u. 3	+ +	—	—	—	—		—	—		—	—				
Chlorxylenol	1—3	+ + +	+ +	+ +	+	+		+	+			(+)				
Trichlorphenol	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +		+ +	+ +			+ +				
Tribromphenol	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +		+ +	+ +			+				
Beta-Naphtol	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +		+ +	+ +			+ +				
Anisol	1—3	—	—	— Ö	—	—		—	—		—					
Phenetol	1—3	—	— Ö	—	—	—		—	—		—	—				
Anethol	1	+ +	+	+	(+)	—		—	—		—	—				
	2 u. 3	+ +	+	+	—	—		—	—		—	—				
	1—3	+ + +	+ +	+	+	+		+	— Ö		—	—				
Veratrol	1—3	+	—	—	—	— O		—	—		—	—				
Guajakol	1—3	—	—	— Ö	—	—		—	—		—	—				
	1—3	+	—	—	—	—		—	— Ö		—	—				
Eugenol	1—3	+	—	— Ö	—	—		—	—		—	—				
	1—3	+	—	—	—	—		—	—		—	—				—
Eugenolmethyläther	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+		+	+		+	+		— O		—
Benzoesäureäthylester	1	+	—	—		—		—	—		—	—				
	2 u. 3	—	—	—	—	—		—	—		—	—				
Gaultheriaöl	1—3	+		—	—			—	— Ö		—	—		—	—	
Chinolin	1—3		—	Ö		—		—	—		—	—				
Xylidin	1—3		—	—	—	—		—	—		—	—				
Trioxymethylen	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +		+ +	+ +		+ +	+ +				
Salizylaldehyd	1—3			— Ö	—	—		—	—		—	—				

Tabelle 9. Wirkung von Phenolen, Halogenphenolen, Phenyläthern, Estern, Aminen und Aldehyden auf Kleiderläuse nach Methode III.

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 10	20	30	45	60	90	120	150	180	240	300	360	420 Minuten	24 Std.
Kresol	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—
	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—					—
meta-Xylenol	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—				—
1. 4. 5-Xylenol	1	++	++	(+)	+	—	—	—	—	—					—
	2	++	+	—	—	—	—	—	—	—					—
	3	+	—	—	—	—	—	—	—	—					—
Phlorol	1—3	—	—	—	—	—		—	—	—					—
Thymol	1—3	+	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—					—
	1—3	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—			
para-Chlorphenol	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—			
para-Bromphenol	1—3	+++	++	+	(+)	—	—	—	—	—					—
	1—3	+	—	—	—	—	—	—	—	—					—
Chlormetakresol	1—3	++	++	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—			
Chlorxylenol	1—3	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	(+)	(+)			
Creolin	1—3	++	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—			
Anisol	1—3	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++				+
Phenetol	1—3	+++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+			
para-Kresolmethyläther	1—3	+++	++	++	++	++	++	++		++					+
Guajakol	1—3	++	++	++	++	+	(+)	(+)		(+)					(+)
	1—3	++	++	++	++	++	++	++		+	+	+			
Eugenol	1—3	++	+	(+)	(+)	—	—	—		—	—				—
	1—3	++	(+)	(+)	—	—	—	—		—	—	—			
Chinolin	1—3	+	—	—	—	—	—	—		—	—	—			
Trioxymethylen	1—3	+++	+++	++	++	++	++	++		++	++				++
Salizylaldehyd	1 u. 2	+++	+++	+++	++	++	++	++		++					(+)
	3	+++	+	[illegible]	[illegible]	(+)		—		—					—

durch den unangenehmen Geruch, der den Gegenständen und Räumen nach der Behandlung mit Kresol anhaftet und durch den Umstand, daß das unverdünnte Kresol die menschliche Haut stark reizt. Immerhin dürfte sie aber in einzelnen Fällen in Betracht kommen zur Entlausung von offenen Baracken und anderen Räumen, die einer Ausgasung nicht zugänglich sind. Dabei wären die als Aufenthalts- und Brutplätze der Läuse in Betracht kommenden Stellen mit hochprozentigen Lösungen von Kresol in Seife, Petroleum oder Salzen organischer Säuren, wie dem Kresotinkresol kräftig anzufeuchten, so daß sich hier eine feine tropfenförmige Kresolschicht bildet, die allmählich verdampft. Für den persönlichen Gebrauch sind auch Puderpräparate mit etwa 3% Kresol empfohlen worden.

Etwas langsamer als die Kresole wirken das Phlorol und das sogenannte meta-Xylenol. Auch diese Flüssigkeit tötete aber in den Versuchen nach der Methode I die Läuse in 20—40 Minuten und büßte durch das 24stündige Stehen in verschlossenen und offenen Schälchen (Methode II und III) nichts an Wirkung ein. Andere Xylenole,

so das 1 : 2 : 4-, 1 : 4 : 5- und 1 : 3 : 5-Xylenol, hatten schwächeres Abtötungsvermögen. Sie wirkten zum Teil bei 2stündiger Einwirkung nach der Methode I nicht sicher, wohl aber, nachdem sie während 24stündigen Stehens in offenen und bedeckten Schälchen (Methode II und III) Gelegenheit zur Verdunstung gehabt hatten. Dementsprechend hatte auch das zwischen 200 und 210° siedende Phenolgemisch eine ziemlich kräftige Wirkung auf Läuse, während mit steigendem Siedepunkt (210 — 20° und 220 — 30°) das Abtötungsvermögen wieder mehr und mehr abnahm.

Cumenol und Carvacrol hatten nur schwachen Einfluß auf Läuse. Thymol rief bei Versuchen nach Methode I zum Teil erst nach 90 Minuten Bewegungslosigkeit bei den Läusen hervor, es wirkte aber, wie das Naphthalin, und aus denselben Gründen wie dieses, rascher, wenn die Schälchen entsprechend Methode II und III 24 Stunden verschlossen oder offen gestanden hatten.

Die mehrwertigen Phenole Orcin und Resorcin waren ohne Einfluß, auch nach 24stündigem Stehen der Schälchen, ebenso das beta-Naphtol und Oxychinolin.

Von den Halogenphenolen tötete para-Chlorphenol Läuse in 30 Minuten, und, wenn die Schälchen 24 Stunden offen oder verschlossen gestanden hatten, noch rascher. Leider steht der scharfe und die Schleimhäute reizende Geruch der Verbindung seiner Anwendung sehr im Weg.

Bromphenol wirkte bei den Versuchen nach Methode I, II und III erst nach erheblich längerer Zeit.

Die Wirkung von Chlor-metakresol auf gleichzeitig eingebrachte Läuse war schwach. Sie trat erheblich schneller ein, nachdem das Mittel in bedeckten (Methode II) und offenen Schälchen (Methode III) Zeit zur Entwicklung von Dämpfen gehabt hatte, und war dann noch besser als die des Naphthalins. Da dieses Phenol fast geruchlos ist, könnte es vielleicht zum persönlichen Schutz gegen dauernde Verlausung sowie zum Freihalten von Möbeln, Kleidern usw. von Läusen in Betracht gezogen werden. Es ist allerdings wesentlich teurer als das Naphthalin.

Das Chlorxylenol, Trichlor- und Tribromphenol erwiesen sich bei jeder Versuchsanordnung als wirkungslos.

Auch bei den Phenoläthern gibt es leicht flüchtige und rasch betäubend wirkende Verbindungen und solche von geringerer Flüchtigkeit mit langsamerer Wirkung aber größerer Nachhaltigkeit. Zu den ersteren zählt vor allem das vielfach empfohlene Anisol, der Methyläther des Phenols, das sehr schnell die Läuse betäubte, aber in 15—30 Minuten nicht sicher tötete (s. auch Tabelle 18). In verschlossenen Schälchen bewahrte es auch seine abtötende Kraft ziemlich gut, nicht aber in den offenen Schalen. Auch bei den hierher gehörenden Verbindungen, dem Phenetol (dem Äthyläther des Phenols), den meta- und para-Kresolmethyläthern war die Wirkung nach 24stündigem Stehen der bedeckten Schälchen (Methode II) meist noch gut erhalten, in den offenen Schälchen (Methode III) aber verloren gegangen. Vielleicht können diese Mittel wenn auch nicht gerade für die Läusebekämpfung, so doch für die Bekämpfung von anderen Insekten vorteilhaft verwendet werden.

Von den über 200° siedenden Äthern waren der Brenzkatechinäthyläther, Veratrol (Brenzkatechindimethyläther) und Guajakol (Brenzkatechinmonomethyläther) von geringer narkotischer, aber beträchtlicher abtötender Kraft, die sich auch bei den beiden erstgenannten Stoffen gut in den verschlossenen Schälchen (Methode II) hielt; in den offenen Schälchen (Methode III) hatte das Guajakol seine Wirksamkeit eingebüßt. Gegen das Eugenol (Allyl-brenzkatechin-monomethyläther) waren die Läuse etwas resistenter, dafür war aber die Wirkung des Mittels in den verschlossenen und auch in den offenen Schälchen nach 24 Stunden noch sehr gut erhalten.

Da diese Äther zum Teil aromatisch riechen, könnte ihre Anwendung vielleicht zur Entlausung von Wohnungen in Betracht kommen. Dagegen erscheint es fraglich, ob sie, unmittelbar am Körper getragen, ohne Belästigung ertragen werden.

Der Thymol- und Eugenolmethyläther, Resorzindiäthyläther, Naphtholmethyl- und -äthyläther zeigten nur ein geringes Tötungsvermögen gegenüber Läusen.

Tabelle 10. Einwirkung von Aminen auf Kleiderläuse nach Methode I.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bzw. Tropfenzahl	Zustand nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	240	360	24
		Minuten													St.
Anilin $C_6H_5NH_2$ 182°	1—3	—	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—	—			—
ortho-Toluidin $C_6H_4(CH_3)NH_2$ 197°	1—3	+ +	+ +		+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +			+
Xylidin $C_6H_3(CH_3)_2NH_2$	1—3	+ +	—	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—			—
Chinolin C_9H_7N 240°	1	+ +	+ +	+ +	(+)	— Ö	—	—	—	—	—	—			—
	2	+ +	+ +	+ +	—	— Ö	—	—	—	—	—	—			—
	3	+ +	—	—	—	— Ö	—	—	—	—	—	—			—
	1 u. 2	+ +	+	—	—	— Ö	—	—	—	—	—	—			—
	3	(+)	—	—	—	— Ö	—	—	—	—	—	—			—
	1—3	+ +	(+)	—	—	— Ö	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ortho-Phenetidin 228°	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+		(+)		(+)			—
	2	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+		—		—			—
	3	+ +	+ +	+	—	—	—	—		—		—			—
para-Phenylendiamin $C_6H_4(NH_2)_2$	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +							—

Von den aromatischen Basen (s. Tabellen 10, 8 und 9) hatten Anilin und Chinolin, in dem einen ausgeführten Versuch auch Xylidin, eine bemerkenswerte Wirkung auf Läuse (Methode I), die während 24 Stunden auch in geschlossenen und offenen Schälchen erhalten blieb (Methode II und III). Ihre praktische Anwendung dürfte aber wegen ihrer starken Reizwirkung kaum in Frage kommen.

Toluidin, Phenetidin und para-Phenylendiamin hatten keinen praktisch in Betracht kommenden Einfluß.

Tabelle 11. Einwirkung von Estern auf Kleiderläuse nach Methode I.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	40	60	90	120	180	24 Std.
		Minuten										
Ameisensäureäthylester	1, 2 u. 3	—	—		—	— Ö	—	—	—			
$HCO_2 \cdot C_2H_5$ 54°	1, 2 u. 3	—	—	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—
Essigsäureäthylester	1	—	—	—	—	—	—	— Ö	+	+	+ +	+
$CH_3 \cdot CO_2 \cdot C_2H_5$ 77°	2	—	—	—	—	—	—	— Ö	—	(+)	+	(+)
	3	—	—	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—
Chloressigsäureäthyl-	1	+ +	+ +	+	(+)	—	—	— Ö	—	—	—	—
ester	2	+ +	+	—	(+)	—	—	— Ö	—	—	—	—
$CH_2Cl \cdot CO_2 \cdot C_2H_5$ 145°	3	+	+	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—
Trichloressigsäure-	1	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	— Ö	—	—	—
äthylester	2	+ + +	+ + +	+	+ +	+ +	+ +	—	— Ö	—	—	—
$CCl_3 \cdot CO_2 \cdot C_2H_5$ 164°	3	+ +	+ +	+	+ +	+	—	—	— Ö	—	—	—
	1	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	—	—	—			—
	2	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	—	(+)	—			—
	3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	+ +	+	—			—
Milchsäureäthylester	1	+ +	+ +		+	+	—	—	—			
$CH_3 \cdot CHOH \cdot CO_2C_2H_5$	2	+ +	+ +		(+)	—	—	—	—			
154°	3	+ +	+ +		(+)	—	—	—	—			
	1	+ +	+	+ +	+	+	—	— Ö	—	—	—	—
	2	+ +	+	+ +	+ +	+	(+)	— Ö	—	—	—	—
	3	+	+	+	+	—	—	— Ö	—	—	—	—
Apfelsäureäthylester	1	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	+ +	+
$(CH_2 \cdot CH\,OH) =$	2	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	+	+	—
$(CO_2C_2H_5)_2$ 129°	3	+	+ +	+ +	+ +	+ + +	+	+	+	+	+	(+)
Weinsäureäthylester $(CH\,OH \cdot CH\,OH) =$ $(CO_2C_2H_5)_2$ 280°	1, 2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	+	—
Benzoesäureäthylester	1 u. 2	+ + +		+	+	+	—	—	— Ö	—	—	
$C_6H_5CO_2C_2H_5$ 213°	3	+ +		—	—	—	—	—	— Ö	—	—	
	1	+	+	+	+	+	— Ö	(+)	—			
	2 u. 3	+	(+)	—	—	—	— Ö	—	—			
	1	+ +	+ + +	+	+	+	+	— Ö	(+)	(+)	(+)	—
	2 u. 3	+ +	+ +	+	+	(+)	—	— Ö	—	—	—	—
Benzoesäurephenylester 314°	1, 2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+		+
Benzoesäurebenzylester 323°	1, 2 u. 3	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	
Benzoesäurethymol-	1, 2 u. 3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +				+
ester	1, 2 u. 3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	+	+			—
Benzoesäurenaphtholester	1, 2 u. 3	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+		+
Brombenzoesäureäthylester	1, 2 u. 3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	+	+	+		—
Salizylsäureäthylester	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	(+)	—	—	—	—
$C_6H_4(OH)CO_2C_2H_5$ 223°	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	—	—	—	—	—

Fortsetzung von Tabelle 11.

Name der Verbindung und Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfen-zahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von										
		5	10	15	20	30	40	60	90	120	180	24 Std.
		Minuten										
Gaultheriaöl	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	—	—			—
$C_6H_4(OH)CO_2CH_3$	2	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	—	—			—
224°	3 u. 4	+ + +	+ + +	+ +	+ +	(+)	—	—	—			—
	1	+ +	+ +	+ +	+	(+)	(+)	—	—	—		
	2	+ +	+ +	+	(+)	(+)	—	—	—	—		
	3	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—		
	1	+ +	+ +	+	+	+	(+)	—	—	—		—
	2	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—		—
	3	+	+	+	(+)	—	—	—	—	—		—
Salizylsäureamylester 270°	1, 2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	
Salizylsäurephenylester	1, 2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		(+)
Salizylsäurekresylester	1, 2 u. 3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+		+
Mandelsäureäthylester	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +				(+)
$C_6H_5CHOHCO_2C_2H_5$	2 u. 3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	+				+
254°	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+	+	+		—
	2, 3 u. 4	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	—	—		—
Zimtsäureäthylester	1 u. 2	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	+	(+)	—
$C_6H_5CH:CH\cdot CO_2C_2H_5$	3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	—	—	—
271°	1, 2 u. 3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	+		+	+	—
Essigsäurephenylester	1	+ + +	+ +	+	+	(+)	(+)	— Ö		—	—	—
$CH_3CO_2C_6H_5$ 193°	2 u. 3	+ + +	+	+	(+)	—	—	— Ö		—	—	—
Gallussäureäthylester $C_6H_2(OH)_3CO_2C_2H_5$	1, 2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +	+ +	+

Ester (s. Tabellen 11, 8 und 9). Unter den Estern aliphatischer Säuren zeigt der Ameisensäureäthylester ein ganz beträchtliches Abtötungsvermögen gegenüber Läusen; er wirkt sehr schnell narkotisch und tötet in 5 bis 10 Minuten (Versuch nach Methode IV, s. Tabellen 18 u. 19). Unter den geprüften Verbindungen ist er die einzige, deren Anwendung zum persönlichen Schutz am Krankenbett einigermaßen aussichtsreich erscheint; allerdings ist seine Wirkung infolge seines niederen Siedepunkts auch nicht sehr nachhaltig.

Der Essigsäureäthylester wirkt gleichfalls schnell betäubend auf Läuse, aber schlecht abtötend, 2 Tropfen töteten nicht in 60 Minuten. Der Monochlor- und Trichloressigsäureäthylester sowie der Milchsäureäthylester wirken schwach betäubend, doch tritt bald nach den letzten Bewegungen auch schon Abtötung ein.

Der Apfelsäure- und Weinsäureäthylester sind praktisch ohne Einwirkung auf Läuse.

Auch unter den Estern aromatischer Säuren findet sich keiner, der den Ameisensäureäthylester an abtötender Kraft auch nur annähernd erreichte. Verhältnismäßig noch am günstigsten wirkten der Benzoesäureäthylester, das Gaultheriaöl, das

Tabelle 12. Einwirkung von Bestandteilen ätherischer Öle, Terpenen, Kampfer und hydroaromatischen Verbindungen auf Kleiderläuse nach Methode I.

Name der Verbindung u. Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	25	30	45	60	75	90	120	150	180	240 Minuten	24 Std.
Pinen 155°	1–4	+++	+++	+++		++	++	+	(+)	(+)	(+)					—
	1	++	++	++	++		++	+	—		(+)					—
	2	+++	++	+	+		+	—	—		—					—
	3	++	++	+	—		—	—	—							—
Carven 176°	1	+++	+++	++	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—	—		—
	2–4	+++	+++	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—		—
	1–3	+++	+++	++	++		++	+	+							—
Cyklohexan	1–4	++	+	—	—	—	—		— Ö		—	—	—		—	—
	1–4	—	—	—	—	—	— Ö	—		—	—	—	—	—	—	—
Camphen 160°	1–3	++	++	++	++		+	+	+	+						
	1–3	++	++	++	++		++	++	+							+
Thymen 165°	1–3	++	++	+	+		+	—	—			—				—
Linalool	1	+++	++	++	++		+	+	+							—[1]
	2–3	+++	++	++	++		(+)	(+)	—							—
	1–4	+++	+++	+++	+++		+++	++	+	+	—	—		—		—
	1–3	+++	+++	+++	+++		++	(+)	(+)		(+)	(+)	—	—	—	
Geraniol	1	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	++	++	++	++	+	(+)	-
	2–4	+++	+++	+++	+++		+++	+++	+++	++	+	+	+	+	—	—[2]
Borneol 212°	1–4	+++	+++	+++	+++		+++	++	++	++	++	+		+	+	—
Isoborneol	1–3	++	+++	+++	+++		++	++	++							(+)
Cyklohexanol	1	+++	+++	++	++		+	—	(+)	(+)	— Ö	—	—	—	—	
	2	++	+++	++	++		+	—	—	—	— Ö	—	—	—	—	
	3	++	+++	++	++		+	(+)	(+)	—	Ö	-	—	—	—	
Terpineol	1	++	+++	++	++		++	++	++	+	+	+				—
	2–4	++	++	++	++		++	++	+	+	+	—				—
	1 u. 2	+++	+++	++	++		++	++	++		(+)					—
	3	+++	++	++	++		++	++	+		(+)					—
Citral 224°	1	+++	+++	+++	++		++	+	+		+					—
	2	+++	+++	+++	++		++	(+)	(+)		—					—
	3	+++	+++	+++	+		+	—	—		—					—
	1	+++	+++	+++	+++		+++	++	++	++	+	—				—
	2–4	+++	+++	+++	++		++	—	+	+	—	—	—			—
Citronellal	1	++	++	++	+		+		— Ö		—			—	—	
	2 u. 3	++	++	+	(+)				— Ö		—	—		—	—	
	1–4	+	+	+	—		—	—	—		—					
	1	+++	++	+			+	+	+	(+)	+	—	—		—	—
	2	+++	++	+			+	+	+	—	—	—	—		—	—
	3 u. 4	+++	++	+			(+)	(+)	—	—	—	—	—		—	—
	1	+++	++	++	++		+	—	+							—
	2 u. 3	+++	++	++	+			—	—							—
Carvon 225°	1	+++	++	++	+		+		+		+					—
	2 u. 3	+++	+	+	+		+	—	—		—					—
	1	++	++	+++	+++		++	+	+	+	(+)	(+)	(+)	—		—
	2 u. 3	++	++	++	++		+	+	+	+	(+)	—	—	—		—
	4	++	++	+	+		+	+	+	—	—	—	—	—		—

[1] Die Läuse fliehen. — [2] Desgl.

Fortsetzung von Tabelle 12.

Name der Verbindung u. Siedepunkt	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	45	60	75	90	120	150	180	240	300	360 Minuten	24 Std.
Fenchon 192° .	1	+ +	+	+	+	+	— Ö	—		—	(+)	—	—				[1]
	2 u. 3	+ +	+	+	+	(+)	— Ö	—		—	—	—	—				
	1—3	+ +	+ + +	+	+	+	(+)	(+)		— Ö	—	—	—				
	1—3	+ +	+	+	+	(+)	(+)	— Ö		—	—	—	—	—	—		
	1 u. 2	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	(+)	(+)		(+)							
	3	+ + +	+ + +	+	+	—	—	—		—							—
Kampfer 204° .	1—3	+ +	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+		+	+		+				[2]
	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +		+	(+)			—
	4	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +		(+)	—			—
Bromkampfer .	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +	+ +		+ +				+
Terpinhydrat .	1—3	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +									+ +
Eukalyptol . . .	1	+ +	(+)	(+)	(+)	(+)	— Ö	—		—	—		—	—			
	2 u. 3	+ +	(+)	(+)	(+)	(+)	— Ö	—		—	—		—	—			
	1—4	+ + +		—	—		—	—		—							—
	1	+ + +	+ +	+	(+)	—	—	—		—							—
	2 u. 3	+ + +	+	(+)		—	—	—		—							—
	1	+	—	—	—	— Ö	—	—		—							—
	2 u. 3	—	—	—	—	— Ö	—	—		—							—
	1	+ +	+	+	+	(+)	—	—		—							—
	2	+	(+)	—	—	—	—	—		—							—
	3	—	—	—	—	—	—	—		—							—
Menthol 212° .	1	+ +	+		+ +	+ +	+ +	+		+	+						
	2 u. 3	+ +	+ +		+ +	+ +	+	+		(+)	—						
Bornylchlorid .	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +									+
Bornylbromid .	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +							—
Bornylacetat . .	1—3	+ +	+ +	+	+ +	+ +	+ +	+	+	+	—	—	—	—			[3]
Safrol = Allylbrenzkatechinmethylenäther 232°	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	—	—									
	4	+ +	+	+	+	—	—	—									
	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—					—
	2 u. 3	+ +	+	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—					—
	4	+	+	+	+	+		—	—	—	—	—					—
Isosafrol 246° .	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+	(+)							—
	4	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	(+)	—								—
Cumarin 290° .	1	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +			+	+	+	(+)
	2	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+			(+)	(+)	—	—
	3	+ + +	+ +	+	+	+	+	+	+	+	+			(+)	—	—	—
	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +									+
Phenylsenföl . . 220°	1	+ + +	+ +	+	+	(+)	—	— Ö		—	—		—				—
	2 u. 3	+ + +	+	+	(+)	—	—	— Ö		—	—		—				—

[1] Die Läuse fliehen. — [2] Die Läuse fliehen. — [3] Die Läuse fliehen.

Tabelle 13. Einwirkung von Bestandteilen ätherischer Öle und hydroaromatischen Verbindungen auf Kleiderläuse nach Methode II.

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 10	20	30	45	60	90	120	180	240	300	360	420	24 Std.
		Minuten												
Pinen	1	+ +	+ +	+	+ +	+ +		+ +	+	+				
	2 u. 3	+	+	(+)	+	+		—	—	—				
	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	(+)	(+)	(+)				—
	2 u. 3	+	+	—	—	—	—	—	—	—				—
Carven	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	—				
	2 u. 3	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—				
	1	+ +	+ +	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—				—
	2 u. 3	+	—	—	—	—	—	—	—	—				—
Camphen	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +				+
Thymen	1—3	+	+	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—	—	
Linalool	1—3	+ +	+	(+)	—	—	—	—	—	—				—
	1—3	+	+	—	—	—	—	— Ö	—	—				
Geraniol	1—3	+ +	+ +	+	+	+	+	+	(+)	(+)				
	1—3	+ +	+ +	+	+	+	(+)	—	—	—				—
Isoborneol	1—3	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+				(+)
Terpineol	1—3	+ +	+	(+)	—	—	—	—	—	—				—
	1 u. 2	+ +	+	—	—	— Ö		(+)	(+)	(+)				
	3	+ +	(+)	—	—	— Ö		(+)	—	—				
Citral	1—3	+	—	—	—	—	—	—	—	—				
Citronellal	1—3	+ +	(+)	(+)	—	—	—	— Ö	—	—				
	1—3	+ +	(+)		—	—	—	—	—	—				—
Carvon	1—3	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—				—
	1—3	+	+	+	(+)	(+)		—	—	—				
Fenchon	1—3	+	—	—	—	—		—	—	—				—
Bromkampfer	1—3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +				(+)
Terpinhydrat	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+				+
Eukalyptol	1	+ +	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—				—
	2 u. 3	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—				—
	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
	2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—				
Menthol	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	(+)	(+)	(+)				—
	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	(+)	(+)				
	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+	+	+	(+)	—	—				
Bornylchlorid	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+				+
	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+				—
Bornylbromid	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	(+)				—
	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +			+					+
	2 u. 3	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +			+					—
Bornylacetat	1	+ +	+ +	+	+	+	+	+	(+)			(+)		—
	2 u. 3	+ +	+ +	+	+	(+)	(+)	—	—					—
	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+						—
Isoborneol	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+				(+)
Safrol	1	+ +	+	+	—	—		—	—	—				
	2 u. 3	+	+	—	—	—		—	—	—				

Tabelle 14. Einwirkung von Bestandteilen ätherischer Öle und hydroaromatischer Verbindungen auf Kleiderläuse nach Methode III.

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von										
		10	20	30	45	60	90	120	180	240	300	24 Std.
		Minuten										
Linalool	1	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	
	2	+++	+++	++	++	+	+	(+)	(+)	—	—	
	3	+++	++	++	+	(+)	—	—	—	—	—	
Citronellal . . .	1	+++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	
	2	+++	++	++	+	+	+	—	—	—	—	
	3	++	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—	
Kampfer	1—3	+++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	
Cyklohexanol . .	1—3	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
Fenchon	1—3	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+	+	
Eukalyptol . . .	1—3	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+	+	
	1—3	+++	+++	++	++	++	+	+	(+)			(+)
	1—3	++	++	++	++	++			+			(+)

vorwiegend aus dem Salizylsäuremethylester besteht, ferner der Essigsäurephenylester, ein Phenylester einer Fettsäure, die in 20—60 Minuten töteten; der Benzoeester wirkte aber nur bei größeren Mengen mit Sicherheit in dieser Zeit. Praktisch unwirksam waren der Benzoesäurephenyl-, -benzyl-, -thymol- und -naphtolester, der Brombenzoesäureäthylester, der Salizylsäureamyl-, -phenyl- und -kresylester, ferner die Äthylester der Mandel-, Zimt- und Gallussäure. Bei den nicht unangenehm riechenden Benzoe- und Salizylsäureestern könnte in gewissen Fällen vielleicht auch an eine praktische Verwendung gedacht werden, zumal sie ziemlich nachhaltige Wirkung (Methode II) haben.

Unter den zahlreichen geprüften hydroaromatischen Substanzen und Terpenen (s. Tabellen 12, 13 und 14) wurden keine gefunden, die auch in kleiner Menge aufgebracht, die Läuse sofort betäubt und bald abgetötet hätte. Nur Eukalyptol wirkte in einzelnen Versuchen bei 2 und 3 Tropfen in 5 Minuten betäubend und tötete in 30 Minuten. Die Wirkung war aber äußerst ungleichmäßig, was für diese Gruppe und die ätherischen Öle, deren Hauptbestandteile diese Verbindungen bilden, überhaupt charakteristisch ist. Bei der Prüfung nach der II. Methode zeigte das Eukalyptol dieselbe Wirkung, die aber nach 24stündigem Stehen in offenen Schälchen verschwunden war.

Die anderen Bestandteile ätherischer Öle brauchten meist 60 Minuten, um die Läuse bewegungslos zu machen, bei einigen trat auch nach längerer Zeit keine Wirkung ein. Verhältnismäßig starken Einfluß zeigten die Kohlenwasserstoffe aus dieser Gruppe, das Pinen, Carven, Thymen, jedoch nicht das Camphen. Sehr schlecht wirksam waren die Alkohole: Terpinhydrat, Isoborneol, Borneol, Menthol, Terpineol, Geraniol, die auch bei 24stündigem Stehen in verschlossenen Schälchen keine besseren Ergebnisse zeigten. Nur der Terpenalkohol Linalool tötete

Tabelle 15. Einwirkung ätherischer Öle auf Kleiderläuse nach Methode I.

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	240	24 Std.
Anisöl	1—3	—	—	—	—	— Ö	—	—	—	—		—	—	
	1	+ + +	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+					—
	2	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	—	—					—
	3	+ + +	+ + +	+ +	+	+	—	—	—					—
Bergamottöl von Reggio	1—3	+ + +	+ +	+ +	+	+	+	—	—					—
	1	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	+	—	(+)		— Ö		—
	2 u. 3	+ + +	+ +	+ +	+	+	+	—	—	—		— Ö		—
Bergamottöl künstlich	1	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	(+)					—
	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+	+	+	—	—					—
Cajeputöl . . .	1	+ +	+ +	+ +	+	—	—	(+)		(+)				—
	2	+ +	+ +	+	+	—	—	(+)		—				—
	3	+ +	+ +	+	+	—	—	—		—				—
Campheröl . .	1—3	+ +	+ +	+ +	+	+	+	—	—	(+)	—	—		—
Eukalyptusöl . .	1	+	+ +	+ +	+	—	— Ö	—	—	—	—	—		
	2 u. 3	+	+	+	(+)	(+)	— Ö	—	—	—	—	—		
	1	+ +	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	—	— Ö		—	—	
	2 u. 3	+ +	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—	— Ö		—	—	
Fenchelöl . . .	1 u. 2		+ +	+ +	+	+ +	+	(+)		(+)				—
	3		+	+	+ +	+	+	—		—				—
	1 u. 2	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	(+)	(+)	(+) Ö	—				—
	3	+ + +	+	+	+	—	—	—	— Ö	—				—
Fichtennadelöl .	1 u. 2	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	(+)	+					—
	3	+ +	+	+	+ +	+	(+)	—	—					—
Geraniumöl . .	1	+ +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)		
	2	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	—	(+)	—	—	—		
	3	+ +	+ +	+ +	+ +	+	—	—	—	—	—	—		
Heliotropin . .	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +						—
Lavendelöl . . .	1—3		+ + +	+ +	+ +	+	+	+						—
Nelkenöl . . .	1 u. 2		+ +	+ +	+ +	+	—	—	—					—
	3		+ +	+	+	—	—	—	—					—
	1 u. 2	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	(+)	—	—	—	—	
	3	+ +	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	
Pomeranzenöl .	1 u. 2	+ +	+	+	+ +	+ +	+	(+)		(+)				—
	3	+	+	+	+	+	—	(+)		—				—
Pfefferminzöl . .	1	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+ +	+	(+)	(+)				—
	2 u. 3	+ +	+ +	+	+	+	+	+	(+)	—				—
	1	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	(+)	—					—
	2 u. 3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	(+)	—					—
	4	+ + +	+ + +	+ +	—	+	(+)	—	—					—
Sandelholzöl . .	1 u. 2	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +				+ +
	3	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+		+				—
Spanisches Hopfenöl	1—3	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	—	—	— Ö	—				—
	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	(+)	—	— Ö	—	—	—	—		
Terpentinöl . .	1	+ +	+ +	+ + +	+ +	+ + +	+	+	— Ö	—	(+)	(+)		
	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	—	—	—	—		
	1—3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		— Ö	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
	1	+ +	+ +	+ +	+	+	(+)	(+)		— Ö				
	2 u. 3	+ +	+ +	+	+	—	—	—		— Ö				

Fortsetzung von Tabelle 15.

Name der Verbindung	Osen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von												
		5	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	240	48 Std.
		Minuten												
Thymianöl . . .	1—3	+	+	+	+	+	—	—	—	—				—
Wacholderbeeröl	1—3	+++	+++			+++	++	+						—
	4 u. 5	+++	+++			+++	++	(+)		—				—
	1—3	++	++	++	++	++	++	+		—				—
	1 u. 2	++	++	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—		
	3	++	+	+	++	+	+	+	—	—	—	—		
Wintergreenöl .	1 u. 2	++	++	++	++	++	—	—	—					—
	3	++	++	++	+	+	(+)	—	—					—
	1	+++	++	+++	+	+	(+)	—	—	—	—	(+)		
	2 u. 3	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—		
Zimtöl	1—5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	(+)				—
	1—3	++	++	++	++	+	+	+	+					—

bei gleichzeitiger Zugabe mit dem Einsetzen der Läuse in 90—120 Minuten, nach Methode II geprüft in 45—120 Minuten und bei den Versuchen nach Methode III in 90—300 Minuten. Einzelne der Aldehyde und Ketone führten zur Abtötung in 20—180 Minuten, so Citronellal, Carvon, Citral, Fenchon; meist trat die Wirkung nach 24stündigem Liegen der betropften Läppchen in den verschlossenen Schälchen rascher ein, bei Citronellal auch in den offen gehaltenen Schälchen.

Die Schwäche und Inkonstanz ihrer Wirkung läßt jedoch eine etwaige praktische Anwendung dieser Stoffe nicht ratsam erscheinen. Namentlich für die persönliche Prophylaxe, für die sie schon empfohlen wurden, eignen sie sich nach dem Ausfall dieser Versuche sehr wenig. Auch für andere Zwecke dürften sich bei gleicher Wirkung billigere und leichter beschaffbare Mittel finden lassen.

Von synthetischen hydroaromatischen Verbindungen kam dem Kohlenwasserstoff Cyklohexan ein ziemlich kräftiges Abtötungsvermögen in längstens 30—60 Minuten zu; das Cyklohexanol wirkte wesentlich schwächer, erst in 90 Minuten.

Das Phenylsenföl, das schließlich hier erwähnt sei, tötete Läuse in 60 Minuten.

Für die ätherischen Öle (s. Tab. 15—17, einige Versuche nach Methode IV in Tab. 18), die aus Pflanzen und Pflanzenteilen durch Destillation mit Wasserdampf, durch Extraktion oder Auspressen gewonnen werden, gilt das gleiche, was bereits für ihre Bestandteile gesagt wurde: die Wirkung ist weder sehr stark, noch konstant, sie schwankte in den verschiedenen Versuchen um das mehrfache. So zeigte das Anisöl in einem Versuche schon bei Zusatz von einem Tropfen rasche Betäubung und Abtötung in 30 Minuten, in einem anderen machte es aber auch bei einem Zusatz von 3 Tropfen erst nach 45 Minuten die Läuse bewegungslos.

Seinem Gehalt an Eukalyptol entsprechend tötete das Eukalyptusöl in einem Versuch in 45, in einem anderen in 120 Minuten die Läuse ab, auch bei den Ver-

Tabelle 16. Einwirkung ätherischer Öle auf Kleiderläuse nach Methode II.

Name der Verbindung	Oseo bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von											
		10	20	30	45	60	90	120	180	240	300	420	24
		Minuten											St.
Anisöl	1	+++	+++	+++	+++	++	+	− Ö	(+)		(+)		(+)
	2 u. 3	++	++	+	+	−	−	− Ö	−		−		−
Bergamottöl künstl.	1	+++	+++	+	+	+	+	(+)	− 0		−	−	
	2	++	++	+	+	+	−	−	− 0		−	−	
	3	++	+	−	(+)	−	−	−	− 0		−	−	
Bergamottöl von Reggio	1	+	(+)	+	(+)	(+)	(+)	− Ö	−		(+)	−	
	2 u. 3	+	(+)	(+)	(+)	−	−	− Ö	−		−	−	
Cajeputöl	1 u. 2	+	(+)	(+)	(+)	−	−	− Ö		−	−	−	
	3	+	(+)	−	−	−	−	− Ö		−	−	−	
Campheröl	1	+	+	+	(+)	−	−	− Ö		−	−	−	
	2	+	(+)	(+)	−	−	−	− Ö		−	−	−	
	3	+	−	−	−	−	−	− Ö		−	−	−	
Eukalyptusöl	1—3	+	−		−	−	−	− Ö	−	−	−	−	
	1 u. 2	++	+	(+)	−	− Ö	−	−	−	−			−
	3	(+)	−	−	−	− Ö	−	−	−	−			−
Fenchelöl	1	++	+	+	(+)	− Ö	−	−	−	−			−
	2 u. 3	++	+	−	−	− Ö	−	−	−	−			−
	1	++	+	(+)	(+)	−	−	− Ö	−	−	−	−	
	2 u. 3	+	+	−	−	−	−	− Ö	−	−	−	−	
Fichtennadelöl	1—3	+	(+)	(+)	+	−	−	− Ö	−	−	−	−	
Guajakholzöl	1—3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	−		++	+	+	
Heliotropin	1	++	++	++	++	++	+	(+)		− Ö	−	−	
	2 u. 3	++	++	++	++	+	+	−		− Ö	−	−	
Lavendelöl	1 u. 2	++	+	(+)	(+)	(+)	−	− Ö		−	−	−	
	3	+	+	−	−	−	−	− Ö		−	−	−	
	1	++	+	+	(+)	− Ö	−	−	−	−			−
	2 u. 3	++	+	(+)	−	− Ö	−	−	−	−			−
Nelkenöl	1	+	+	(+)	−	− Ö	−	−	−	−			−
	2	+	+	−	−	− Ö	−	−	−	−			−
	3	+	−		−	Ö	−	−	−	−			−
	1	++	++	+	(+)	−	−	− Ö	−	−	−	−	
	2 u. 3	+	+	−	−	−	−	− Ö	−	−	−	−	
Pomeranzenöl	1—3	++		(+)	(+)	(+)	−	− Ö	−	−	−	−	
Pfefferminzöl	1—3	+	+	(+)	−	−	−	− Ö	−	−	−	−	
	1	+	+	(+)	(+)	(+)		− Ö	−	−			
	2 u. 3	+	(+)	(+)	−	−		− Ö	−	−			
Sandelholzöl	1—3	+++	++	++	++	+	+	+	+		+	+	
Span. Hopfenöl	1 u. 2	+	(+)	− Ö	−	−	−	−	−	−			−
	3	−	−	− Ö	−	−	−	−	−	−			−
Terpentinöl	1 u. 2	+++	+++	++	++	++		+	+	+			
	3	++	++	+	+	+			−	−			
Thymianöl	1—3	+	−	−	−	−	−	− Ö	−	−	−	−	
Wacholderbeeröl	1	++	++	+	+	+	+	(+)	−		−	−	
	2	++	+	−	+	−	−	−	−		−	−	
	3	+	−	−	−	−	−	−	−		−	−	
Wintergreenöl	1—3	+	+	−		−	−	− Ö	−	−	−	−	
Zimtöl	1—3	+	(+)	(+)	−	−	−	− Ö	−	−	−	−	

Tabelle 17. **Einwirkung ätherischer Öle auf Kleiderläuse nach Methode III.**

Name der Verbindung	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 10	20	30	45	60	90	120	180	240	300 Minuten	24 Std.
Anisöl	1—3	+ + +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	+	+	
Bergamottöl	1	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+		—
	2 u. 3	+ +	+	+	+	+	+	(+)	—	—		—
Eukalyptusöl	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	
	1	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+
	2 u. 3	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+		—
Fenchelöl	1—3	+ +	+	+	+	(+)	—	—	—	—		—
Lavendelöl	1	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+	+	+	—	—		—
	2 u. 3	+ +	+ +	+	(+)	(+)	(+)	—	—	—		—
Nelkenöl	1 u. 2	+ +	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—		—
	3	+	—	—	—	—	—	—	—	—		—
	1	+ +	+ +	+	—	—	—	—	—	—	—	
	2 u. 3	+ +	+	—	—	—	—	—	—	—	—	
Terpentinöl	1—3	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	
Wintergreenöl . . .	1	+ +	+	(+)	(+)	—	—	—	—	—		—
	2	+ +	+	—	—	—	—	—	—	—		—
	3	+	—	—	—	—		—	—			—

suchen mit **Fenchelöl**, **spanischem Hopfenöl**, **Terpentinöl**, **Pfefferminzöl**, **Wintergreenöl** kam es zur Abtötung der Läuse in 60—120 Minuten; aber die Wirkung dieser Mittel muß doch als recht schwach bezeichnet werden, wenn sich auch eine leichte Erhöhung des Abtötungsvermögens ergab, nachdem den Ölen bei den Versuchen nach der Methode II und III durch 24stündiges Liegen der Läppchen in den geschlossenen Schälchen Gelegenheit gegeben war, einen gewissen Dampfdruck zu erreichen. Beim Fenchel-, Nelken- und Wintergreenöl war diese Erhöhung der Wirkung auch in den offenen Schälchen zu bemerken.

Für die **praktische Anwendung** sind die Mittel aber ebenso wenig zu empfehlen, als die **Terpene**, zumal auch der keineswegs angenehme Geruch der Öle ihre Anwendung unerwünscht macht.

Eine Reihe von **Läusebekämpfungsmitteln aus dem Handel**, die von den Erfindern oder Herstellern besonders empfohlen waren, ist ebenfalls mehrfach geprüft worden. Von einem näheren Eingehen auf sie kann hier aber abgesehen werden, da diese Mittel keine besonders günstige Wirkung zeigten und sich auch in den Verhältnissen der Praxis nicht bewährt haben. Verhältnismäßig am besten wirksam erwies sich darunter die „**Lausofanlösung**", die Läuse in etwa 15 Minuten betäubte und in 60 Minuten tötete. In 30 Minuten tötete das Lausofan nicht, auch war seine Wirkung nach 24stündigem Liegen der damit betropften Läppchen in verschlossenen Schälchen verschwunden. Das „**Lausofanpulver**" tötete Läuse überhaupt nicht und machte sie auch nur vorübergehend bewegungslos. Einige andere solcher pulverförmigen Mittel waren ebenfalls ganz unwirksam, ebenso eine „**Cinol**" genannte Paste, auf deren dick aufgetragener Schicht sich die Läuse nach 24 Stunden noch lebhaft bewegten.

Tabelle 18. Einige Beispiele für Versuche nach der Methode IV.

Name und Verbindung	Öffnung nach Min.	Ösen- bezw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	24 Stunden	48
Benzin 80/90°	5	1	−	−	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
		2	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+ +
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
	10	1	−	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+ +	+ +
		2	−	+	+	+	+	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+ +	+
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+
	15	1	−	+	+	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
		2	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	+
		3	−	−	−	−	−	−	−	(+)	(+)	(+)	(+)	+	+
	20	1	−	+	+	+	+	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+
		2	−	−	−	−	−	−		+	+	+	+	+	+
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+
	30	1	−	+	+	+	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
		2	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+
		3	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+
	40	1	−	+	−	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +	+ +
		2	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+		+ +	+
		3	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+		+	−
	50	1	−	+	+	+	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +	+ +
		2	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+		+ +	+ +
		3	−	−	−	−	−	−	−		−	−		+	+
	60	1	−	+	+ +	+ +	+ +	+	+	+	+	+		+ +	+
		2	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		+	+
Tetrachlorkohlenstoff	10	1	−	−	−	−	−	−	(+)	(+)	+	+	+	+	
		2	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+ +	
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	
	20	1	−	−	−	−	−	(+)	(+)	+	+	+ +	+ +	+ +	
		2	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	30	1	−	−	−	−	(+)	+	+	+	+	+	+ +	+ +	
		2 u. 3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	40	1	−	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	
		2	−	−	−	−	+	+	+	(+)	(+)	−	−	+	
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	50	1		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ +	
		2	−	−	−	−	−	−	−	(+)	+	−	−	−	
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
	60	1	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+ +	+ +			+ +	
		2	(+)	(+)	+	+	+	+	+	+ +	+ +			+ +	
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−			−	
Cumol	5	1	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	+	+
		2	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
		3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	10	1	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+
		2 u. 3	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

Fortsetzung von Tabelle 18.

Name der Verbindung	Öffnung nach Min.	Ösen- bzw. Tropfenzahl	Beobachtung nach einer Einwirkungszeit von 5	10	15	20	30	45	60	90	120	150	180	24	48
			Minuten											Stunden	
Cumol	15	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	20	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	30	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	40	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	(+)
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	50	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	60	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kresol	10	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	20	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Anisol	10	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		+	
	20	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		+	
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—		—		—	
	30	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		+	
Ameisensäureester	5	1	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	15	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Benzoesäureäthylester	10	1	—	—	—	—	+	+	+	(+)				+	
		2	—	—	—	—	—	—	—	—				—	
		3	—	—	—	—	—	+	+	—				—	
	20	1	—	—	—	—	—	(+)	—	—	—			—	
		2 u. 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—			—	
	30	1—3	—	—	—	—	—	—	—	—				—	
Terpentinöl	90	1		+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+				+	
		2		—	—	—	—	—	—	—				(+)	
		3		+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+				(+)	
	100	1		—	+	+	+	+	+	+				(+)	
		2		—	+	+	+	+	+	+				(+)	
		3		—	—	—	—	—	—	—				—	
	110	1		—	—	—	+	+	+	+				—	
		2		—	—	—	—	—	(+)	(+)				—	
		3		—	—	—	—	—	—	—				—	
Zimtöl	90	1		—	+	+	+	+	+	+				—	
		2 u. 3		—	—	—	—	—	—	—				—	
	100	1		+	+	+	+	+	+	+				+	
		2 u. 3		—	—	—	—	—	—	—				—	
	120	1		+	+	+	+	+	+	+				+	
		2 u. 3		—	—	—	—	—	—	—				—	
	130	1		—		—	—	—	—	—				—	
		2 u. 3		—		—	—	—	—	—				—	

Tabelle 19. Zusammenstellung der Ergebnisse der Versuche mit Kleiderläusen nach allen vier Methoden.

Name der Verbindung	Siedepunkt	Abtötung bei											
		Methode I			Methode II			Methode III			Methode IV		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Grad	Tropfen			Tropfen			Tropfen			Tropfen		
Benzin (Handels-)	—	> 24 h	> 24 h	> 24 h									
desgl. . . .	50/60	> 24 „	> 24 „	> 24 „	—	—	—	—	—	—	—	—	>90 „
desgl. . . .	80/90	> 24 „	> 24 „	> 24 „	—	—	>240 m	—	—	—	—	—	>60 „
desgl. . . .	110/20	> 24 „	> 24 „	< 24 „	—	—	>240 „						
desgl. . . .	100/50	> 24 „	> 24 „	< 24 „	—	—	—	—	—	—	60 m	60 m	
Amylen . . .	37	> 24 „	< 24 „	50 m									
Chloroform . .	61	> 24 „ < 150 m	> 24 „ 30 m	— 30 „	—	—	> 24 h						
Bromoform . .	151	—	30 „	30 „	—	—	>240 m						
Tetrachlorkohlenstoff	76	>180 „ >150 „	<180 „ > 30 „	<180 „ 30 „	— —	— —	— —	— —	— —	>300 m —	>60 „ >90 „	>60 „ >90 „	10 „ 30 „
Äthyljodid . .	72	>180 „	>180 „	>180 „									
Äthylenbromid .	131	> 15 „ 30 „	> 15 „ 30 „	15 „ 30 „									
Hexachloräthan	185	< 24 h > 24 „	< 24 h > 24 „	< 24 h < 24 „	—	—	>240 „						
Amylbromid . .	—	> 24 „	< 24 „	< 24 „	—	—	—	—	—	>240 „			
Schwefelkohlenstoff	47	> 24 „ —	> 24 „ 30 m	> 24 „ 30 m	—	—	>240 „	—	—	—	>90 „	—	10 „
Benzol	80	> 60 m	60 „	60 „	—	—	>240 „	—	—	>240 „	>60 „	20 „	10 „
Toluol	110	60 „ > 30 „	60 „ 30 „	60 „ 30 „	—	— —	>240 „ —	— —	— —	> 24 h —	 20 „	 15 „	 15 „
Xylol	138/42	> 30 „	30 „	30 „	>240 m	60 m	20 „	—	—	> 24 „	30 „	15 „	15 „
Äthylbenzol . .	134	30 „ 30 „	30 „ 30 „	30 „ 30 „	>240 „	30 „	20 „	—	—	> 24 „			
Cumol	158	30 „ 40 „ 30 „	30 „ 40 „ 30 „	30 „ 40 „ 30 „	60 „ —	10 „ —	10 „ —	— —	— —	> 24 „ > 24 „	50 „ 20 „	5 „ 10 „	5 „ 10 „
Cumol, techn. .	—	> 30 „ 40 „ 30 „	30 „ 40 „ 30 „	30 „ 40 „ 30 „	>240 „	>240 „	10 „	—	—	> 24 „			
Pseudocumol .	170	30 „	30 „	30 „	—	—	—	—	> 24 h	180 m			
Propylbenzol . .	158	< 24 h	< 24 h	< 24 h	—	—	—	—	—	>240 „			
Mesitylen . .	164	> 60 m 30 „	60 m 30 „	60 m 30 „	—	—	—	—	—	>300 „			
Cymol . . .	175	> 75 „ 60 „	75 „ 60 „	75 „ 60 „	75 „	60 „	45 „	—	—	>300 „			
Naphthalin . .	218	120 „ 60 „	120 „ 60 „	120 „ 60 „	—	—	—	>300 m	45 m	45 „			
Phenanthren . .	340	> 24 h	—	24 h									
Anthracen . .	351	> 24 „	> 24 h	24 „									
Acenaphthen .	277	> 24 „	> 24 „	24 „	24 h	24 h	24 h						
Chlorbenzol . .	132	30 m 40 „ 15 „	30 m 40 „ 15 „	— — —	—	—	>240 m						
Brombenzol . .	155	30 „ 15 „	30 „ 15 „	— —	— >240 m	— 10 m	— 10 „	—	—	> 24 h			
Jodbenzol . . .	188	15 „	15 „	—	10 „	10 „	10 „						

Fortsetzung von Tabelle 19.

Name der Verbindung	Siedepunkt	Abtötung bei											
		Methode I			Methode II			Methode III			Methode IV		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Grad	Tropfen			Tropfen			Tropfen			Tropfen		
Ortho-Dichlorbenzol	179	30 m 40 „ —	30 m 40 „ > 15 „	30 m 15 „	30 m	30 m	—	—	—	> 24 h			
Para-Dichlorbenzol	172	> 90 „ > 75 „ — 90 „	> 90 „ 40 „ > 40 „ 90 „	> 90 „ 40 „	> 30 „ > 240 „	> 30 „ —	> 30 m > 240 „	—	—	> 24 „			
Para-Dibrombenzol . . .	219	24 h	—	—	> 240 „	90 „	90 „	120 m	60 m	60 m			
Para-Chlortoluol	163	30 m > 15 „	30 „ 15 „	—	> 240 „	20 „	20 „	—	—	> 24 h			
Bromtoluol . .	184	> 30 „ —	30 „ > 24 h	— 24 h	> 240 „ > 240 „	30 „ > 240 „	30 „ 20 „	—	—	> 24 „			
Benzylchlorid .	176	30 „ 40 „ 15 „	30 m 40 „ 15 „	—	45 „	45 „	—	—	—	> 24 „			
Benzalchlorid .	213	30 „	30 „	—	45 „	45 „							
Bromstyrol . .	150/60	> 60 „	60 „	60 m									
Bromnaphthalin	281	24 h	24 h	—	180 „	180 „	180 „						
Alkohole:													
Methylalkohol .	67	> 180 m	> 30 m	> 15 m									
Äthylalkohol . .	78	> 60 „	> 30 „	> 20 „	—	—	—	—	—	> 300 m	60 m	40 m	40 m
Amylalkohol . .	132	60 „	60 „	—	—	—	—	—	—	—	60 „	40 „	40 „
Zimtalkohol . .	250	> 90 „	> 50 „	> 15 „									
Äther:													
Äthyläther . .	35	> 24 h	> 24 h	> 24 h	—	—	> 240 m	—	—	—	> 90 m		
Trichloräther .	157	60 m	60 „	60 m	60 m	45 m	45 „						
Benzyläthyläther	185	> 30 „ 30 „	30 „ 30 „	30 „	> 20 „	> 20 „	30 „	24 h	180 m	45 m			
Diphenyläther .	—	> 120 „	> 120 „	> 90 „	> 240 „	> 120 „	> 120 „	—	> 240 „ < 24 h				
Methylal . . .	42	> 24 „	—	> 24 „									
Aldehyde u. Ketone													
Aceton	56	> 24 h	—	> 24 h									
Trioxymethylen .	—	> 24 „	—	> 24 „	—	—	> 24 h	—	—	> 24 h			
Salizylaldehyd .	196	30 m	30 m	30 m	30 m	30 m	—	> 24 h	24 h	90 m			
Anisaldehyd . .	248	> 150 „	> 90 „	> 90 „									
Zimtaldehyd . .	220	> 150 „	> 90 „	> 90 „									
Bromsalizylaldehyd . .	—	> 240 „	> 150 „	> 150 „									
Phenole:													
Ortho-Kresol .	188	20 m	20 m										
Para-Kresol . .	198	30 „	30 „										
Meta-Kresol . .	201	20 „ 30 „	20 „ 30 „										

Fortsetzung von Tabelle 19.

Name der Verbindung	Siedepunkt (Grad)	Abtötung bei: Methode I, 1 Tropfen	Methode I, 2 Tropfen	Methode I, 3 Tropfen	Methode II, 1 Tropfen	Methode II, 2 Tropfen	Methode II, 3 Tropfen	Methode III, 1 Tropfen	Methode III, 2 Tropfen	Methode III, 3 Tropfen	Methode IV, 1 Tropfen	Methode IV, 2 Tropfen	Methode IV, 3 Tropfen
Arzneibuchkresol		30 m	30 m		20 m	20 m		10 m	10 m		10 m	10 m	
meta-Xylenol	211	30 „ 40 „	30 „ 40 „		20 „ 30 „	20 „ 30 „		10 „	10 „				
1. 2. 4. Xylenol	225	>120 „ >120 „	>120 „	> 90 m >120 „	60 „	60 „							
1. 4. 5. Xylenol	211	> 60 „	> 60 „	> 60 „	30 „	30 „		60 „	30 „	20 m			
Cumenol	232	>120 „	> 60 „	> 60 „	180 „	180 „							
Thymol	230	> 90 „		> 90 „	<120 „	<120 „		60 „ 45 „	60 „ 45 „				
Carvacrol	236		> 90 „	> 90 „	60 „	60 „							
Phlorol	206	40 „ 20 „	40 „ 20 „		20 „ 20 „	20 „ 20 „		10 „	10 „				
Orcin	289			> 24 h			>420 m						
Phloroglucin				> 24 „			>420 „						
β-Naphthol	286			>180 m			>240 „						
Oxychinolin	199			> 24 h				10 „	10 „				
para-Chlorphenol	217	30 „ 40 „	30 „ 40 „		30 „	30 „							
Bromphenol	238	30 „ 60 „ >120 „	30 „ 60 „ >120 „	> 20 m	30 „	30 „		60 „ 20 „	60 „ 20 „				
Trichlorphenol		> 24 h	> 24 h	> 24 h			>240 „						
Tribromphenol		24 „	24 „				>240 „						
Chlor-meta-kresol	195	60 m	60 m		120 „ 60 „	120 „ 20 „		45 „	45 „				
Chlor-Xylenol		> 24 h		> 24 „			>240 „			>300 „			
Creolin	·	60 m	60 „					45 „	45 „				
Phenoläther:													
Anisol	152	30 m > 10 „ > 15 „	30 m > 10 „ 15 „	10 m 15 „	30 m	30 m				> 24 h	60 m	30 m	> 30 m 30 „
Phenetol	172	20 „	20 „		20 „	20 „				>300 m			
Diphenyläther	252	>150 „	>120 „	> 40 „									
para-Kresolmethyläther	175	> 30 „ 30 „	> 30 „ 30 „	> 30 „						> 24 h			
meta-Kresolmethyläther	177	30 „	30 „										
Thymolmethyläther	232	> 90 „		> 90 „									
Anethol	232	> 90 „	> 90 „	> 30 „	120 „ > 45 „	120 „ > 30 „							
Veratrol	205	> 30 „		> 30 „	< 60 „	< 60 „							
Brenzkatechinäthyläther	240	30 „ 30 „	30 „ 30 „										
Guajakol	250	30 „ 30 „	30 „ 30 „		30 „	30 „				> 24 „			
Eugenol	247	90 „	90 „		30 „	30 „		60 m 45 „	60 m 45 „		70 „	60 „	60 „
Eugenolmethyläther	244	> 60 „	> 60 „	> 60 „	360 „	360 „							

Fortsetzung von Tabelle 19.

Name der Verbindung	Siedepunkt	Abtötung bei											
		Methode I			Methode II			Methode III			Methode IV		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Grad	Tropfen			Tropfen			Tropfen			Tropfen		
Aromatische Amine:													
Anilin	182	45 m	45 m										
Toluidin . . .	197	—	⟩ 24 h	⟩ 24 h									
Xylidin . . .		60 „	60 m	—	10 m	10 m							
Chinolin . . .	240	30 „	30 „	—	30 „	30 „	—	20 m	20 m				
Phenetidin . .	—	⟩180 „	⟩ 60 „	⟩ 15 m									
Ester:													
Ameisensäure-äthylester	54	30 m 60 „	30 m 60 „	— —	— —	— —	— —	— —	— ·	— —	10 m 10 „	5 m 10 „	5 m 10 „
Essigsäure-äthylester	77	⟩ 60 „	⟩ 60 „	60 m									
Chloressigsäure-äthylester	145	60 „	60 „										
Trichloressigsäure-äthylester .	164	90 „	90 „	90 „									
Milchsäure-äthylester . .	154	60 „	60 „	60 „									
Benzoesäure-äthylester	213	90 „ ⟩180 „	40 „ 60 „	40 „ 60 „	20 m	10 m	10 m	—	—	—	30 m	20 m	20 „
Salizylsäure-äthylester . .	223	⟩ 60 „	⟩ 40 „										
Gaultheriaöl . .	224	⟩ 40 „	⟩ 30 „	⟩ 30 „	⟨120 „	⟨120 „							
Essigsäure-phenylester .	193	60 „	60 „										
Kreosot . . .	—	40 „	40 „										
Terpene, Kampfer, hydroaromatische Verbindungen und andere Bestandteile ätherischer Öle:													
…inen	155	⟩ 90 m —	⟩ 30 m ⟩ 90 „	⟩ 15 m ⟩ 90 „	 ⟩240 m	 ⟩ 60 m	 ⟩ 60 m						
…arven . . .	176	⟩ 75 „	⟩ 45 „	⟩ 45 „	⟩180 „	⟩ 30 „	⟩ 30 „	—		—	80 m	70 m	70 m
…yklohexan . .		⟨ 60 „ ⟨ 30 „	⟨ 60 „ ⟨ 30 „	—	—	—	—	—	—	⟩240 m			
…amphen . . .	160	—	—	⟩ 24 h	⟩ 24 h	—	⟩ 24 h						
…inalool . . .		— —	— —	⟩120 m ⟩ 75 „	⟨120 m ⟩ 30 „	— —	⟨120 m ⟩ 30 „	⟩300 m	180 m	90 „	⟩100 „	⟩100 „	90 „
…raniol . . .		⟩240 „	⟩180 „	⟩180 „	⟩240 „	—	⟩240 „						
…orneol . . .	212	⟩240 „	—	⟩240 „									
…oborneol . .		—	—	⟩ 24 h	—	—	⟩ 24 h						
…yklohexanol .		90 „	90 „	90 m	—	—	—	—	—	⟩240 „			
…rpineol . .		— ⟩120 „	— ⟩ 90 „	— ⟩ 90 „	⟩ 30 „ ⟩240 „	— ⟩240 „	⟩ 30 m ⟩120 „						
…	224	⟩ 90 „	⟩ 75 „	⟩ 75 „	⟩ 10 „								
…nellal . .		60 „ ⟩ 90 „	60 „ ⟩ 60 „	60 „ ⟩ 45 „	⟨120 „ ⟩ 20 „	⟨120 „ ⟩ 20 „	—	⟩300 „	⟩ 90 „	⟩ 30 „	⟩ 90 „	80 „	80 „
…on	225	⟩150 „	⟩ 90 „	⟩ 90 „	⟩ 60 „	⟩ 60 „							

Fortsetzung von Tabelle 19.

Name der Verbindung	Siedepunkt	Abtötung bei											
		Methode I			Methode II			Methode III			Methode IV		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	Grad	Tropfen			Tropfen			Tropfen			Tropfen		
Fenchon	192	— — —	60 m 90 „ 〉45 „	60 m 90 „ 45 „	〉10 m	〉10 m	—	—	—	〉300 m	100 m	100 m	
Kampfer	204	—	—	〉240 „	—	—	—	—	—	〉300 „			
Bromkampfer		—	—	〉24 h	—	—	〉24 h						
Terpinhydrat		—	—	〉24 „	—	—	〉24 „						
Eukalyptol		45 m 30 „	45 „ 30 „	— —	〉240 „ 〉90 „	〉10 „ 〉10 „	〉10 m 〉10 „	— —	— —	〉24 h 〉24 „			
Menthol	212	— 〉120 „	— 〉90 „	— 〉90 m	— 〉240 „	— 〉120 „	〉240 „ 〉120 „						
Bornylchlorid		—	—	〉24 h	〉24 h	〉240 „	〉240 „						
Bornylbromid		—	—	〉90 m	—	—	〉240 „						
Bornylacetat		—	—	〉90 „	〉360 m	〉120 „	〉120 „						
Safrol	232	〉30 „ 〉90 „	〉30 „ 〉75 „	〉75 „	〉30 „	〉20 „	〉20 „	—	—	—	〉120 „	70 „	[illegible]
Isosafrol	246	〉90 „	—	〉90 „									
Cumarin	290	—	—	〉24 h									
Phenylsenföl	220	60 „	—	60 m									
Ätherische Öle:													
Anisöl		30 m 〉90 „	30 m 〉45 „	〉30 m	〉120 m	〈120 m	〈120 m	〉300 m	—	〉300 m			
Bergamottöl (Reggio)		180 „	180 „	—	〉120 „	〈120 „	〈120 „	〉240 „	180 m	〉120 „			
Cajeputöl		〉120 „	〉60 „	〉20 „	〈120 „	—	〈120 „						
Eukalyptusöl		45 „ 〉60 „	— 〉30 „	45 „	〈60 „	—	〈60 „	〉24 h	〉240 „	〉240 „			
Fenchelöl		90 „	90 „	90 „	60 „	〈60 „	〈60 „	〉60 m	—	〉60 „	100 m	90 m	[illegible]
Fichtennadelöl		〉90 „	〉90 „	〉45 „	〈120 „	—	〈120 „	—	—	—	〉120 „	90 „	[illegible]
Geraniumöl		〉180 „	〉90 „	〉30 „									
Kampferöl		—	—	〉120 „	〈120 „	—	〈120 „						
Nelkenöl		〉90 „ —	〉90 „ —	〉20 „ —	〈120 „ 60 „	— 〈60 „	〈120 „ 〈60 „	〉45 „	〉45 „	〉10 „			
Pomeranzenöl		〉120 „	〉120 „	〉60 „	120 „	—	120 „	—	—	—	80 „	80 „	[illegible]
Pfefferminzöl		〉120 „ —	〉90 „ —	〉90 „ —	〈120 „ 120 „	—	〈120 „						
Sandelholzöl		〉24 h	〉24 h	24 h	〉420 „	—	〉420 „						
Spanisches Hopfenöl		〈90 m 60 „	〈90 m 60 „	—	30 „	—	〈30 „	—	—	—	110 „	100 „	[illegible]
Terpentinöl		〉240 „ 120 „	〉240 „ 120 „	〉240 m	〉240 „	〉240 „	〉60 „	—	—	〉300 „	〉110 „	〉110 „	[illegible]
Thymianöl		〉30 „	—	〉30 „	〉120 „	—	〉120 „	—	—	—	90 „	90 „	
Wacholderbeeröl		〉90 „	〉90 „	〉60 „	〉120 „	〉45 „	〉10 „	—	—	—	—	—	[illegible]
Wintergreenöl		〉180 „	〉30 „	〉30 „	〈120 „	—	〈120 „	〉45 „	〉20 „	〉10 „			
Zimtöl		〉120 „	—	〉120 „	〈120 „	—	〈120 „	—	—	—	130 „	90 „	[illegible]
Bergamottöl, künstlich		〉90 „	〉45 „	〉45 „	180 „	〈180 „	〈180 „						

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es wurde ein Verfahren ausgearbeitet zur Prüfung des Einflusses von Dämpfen organischer Stoffe auf Kleiderläuse unter Beachtung der quantitativen Verhältnisse, mit dem sich die Schnelligkeit der Betäubung, die Schnelligkeit der abtötenden Wirkung, der Einfluß einer geringen und der einer kräftigen Belüftung auf den Wirkungsgrad der geprüften Mittel vergleichend feststellen läßt.

Die Schnelligkeit der betäubenden und tötenden Wirkung für die Beurteilung als unter allen Umständen wesentlichstes Prinzip zu betrachten, erscheint nicht zweckmäßig; für viele Zwecke ist die Nachhaltigkeit der Wirkung wichtiger als die Schnelligkeit.

Aus den mit diesen Methoden ausgeführten Versuchen lassen sich dann auch gewisse Anhaltspunkte gewinnen für die voraussichtliche Wirkung der geprüften Verbindungen gegen andere Insekten.

2. Durch die Ausführung der Untersuchungen nach den verschiedenen Prüfungsmethoden (I—IV) lassen sich Anhaltspunkte finden für die Beurteilung der Wirkungsfähigkeit der Verbindungen unter verschiedenen Verhältnissen, sowie für die Auswahl der Mittel zu ihrer Erprobung für die verschiedenen Erfordernisse der Praxis. Erst die praktische Erprobung kann dann über die tatsächliche Brauchbarkeit eines Mittels für die einzelnen Zwecke der Läusebekämpfung entscheiden; der Laboratoriumsversuch gibt nur Anhaltspunkte für die Auswahl der Mittel.

3. Bei diesen Versuchen, die sich über etwa 200 Verbindungen aus verschiedenen Körperklassen erstreckten und die meist mehrfach mit Läusen verschiedener Herkunft angestellt wurden, fanden sich unter dem Gesichtspunkt der Schnelligkeit und Nachhaltigkeit der Wirkung betrachtet

a) Verbindungen, die mehr oder weniger rasch betäubend wirkten, deren Wirkung sich aber schon bei ganz beschränktem Luftzutritt rasch verflüchtigte und die deshalb nur bei relativ hoher Konzentration eine Abtötung der Läuse bewirkten. Dazu gehören namentlich die nieder siedenden und sehr flüchtigen Stoffe wie Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Tetrachlorkohlenstoff und die nieder siedenden Anteile des Petroleumvorlaufs;

b) Verbindungen, die rasch betäubten, aber ziemlich lange Zeit zur Abtötung brauchten, z. B. Benzol, Toluol, Xylol;

c) Verbindungen, die rasch betäubend und tötend wirkten, deren Wirkung aber bei 24stündigem Aufenthalt der angewandten Mengen in bedeckten Schälchen verloren ging; so die höher siedenden Anteile des Petroleumvorlaufs, Amylen, Ameisensäureäthylester, einige halogensubstituierte aromatische Kohlenwasserstoffe und Phenoläther, sowie Salizylaldehyd;

d) Stoffe, die rasch abtötend wirkten und deren Wirkung sich auch bei geringer oder starker Belüftung kräftig erhielt und zum Teil sogar verstärkte. Dazu gehören namentlich einige Phenole, Halogenphenole, Anilin, Chinolin, während Cumol und einige Phenoläther bei der starken Belüftung ihre Wirkung verloren.

e) Verbindungen, die infolge ihrer geringen Flüchtigkeit verhältnismäßig langsam zur Wirkung kamen, deren Abtötungsvermögen aber durch längere schwache oder starke Belüftung verstärkt wurde, da in dieser Zeit eine größere Menge davon in Dampfform überging, z. B. Naphthalin, Eugenol, Thymol, Chlormeta-kresol;

f) solche Stoffe, die längere Zeit zur Abtötung nötig haben, deren Wirkung aber höchst ungleichmäßig bei den verschiedenen Versuchen ausfiel; hierher gehören namentlich hydroaromatische Verbindungen und die ätherischen Öle;

g) Verbindungen, die sich ganz ungiftig erwiesen und auch bei längerem Liegen nicht tödliche Dampfmengen entwickelten, so namentlich sehr schwer flüchtige Verbindungen aus an sich wirksamen Körperklassen, wie hochmolekulare Kohlenwasserstoffe (Phenanthren, Anthracen), Phenole (Orcin, Phloroglucin, β-Naphthol, Chlorxylenol) und Ester;

4. Nach ihrer Eignung für die verschiedenen Zwecke der Läusebekämpfung lassen sich darnach folgende Klassen aufstellen:

a) Solche Stoffe, die rasch betäubend und auch unter ungünstigen Bedingungen so schnell abtötend wirken, daß ihre praktische Anwendung für den persönlichen Schutz bei unmittelbarer Gefahr der Fleckfieberinfektion in Betracht gezogen werden könnte. Von den untersuchten Mitteln hat in dieser Hinsicht keines eine genügend sichere Wirkung entfaltet, höchstens der Ameisensäureäthylester könnte vielleicht für eine praktische Erprobung nach dieser Richtung in Frage kommen.

b) Solche Verbindungen, die zwar einige Zeit brauchen, um eine tödlich wirkende Dampfkonzentration zu entwickeln, bei denen die Wirkung sich dann aber während längerer Zeit erhält; derartige Stoffe würden dann für den persönlichen Schutz gegen Verlausung geeignet sein, wenn sie von einigen Depots aus durch Unterhaltung einer giftig wirkenden Dampfkonzentration die an- und auskriechenden Läuse abtöten und so die dauernde Ansiedlung von Läusen in den Kleidern verhindern können. Sie würden aber keine Gewähr dafür bieten, daß jede Laus sofort nach dem Ankriechen, noch bevor sie zum Beißen kommt, unschädlich gemacht wird. Hierher gehören das Naphthalin und von Phenolen Chlormetakresol, Thymol, bei geeigneter Verwendungsform auch Kresol, ferner vielleicht Salizylaldehyd und Benzoesäureäthylester.

c) Solche Mittel, die rasch abtötend wirken, deren Wirkung aber schon durch schwache Belüftung verloren geht. Diese Stoffe kommen nur für die Entlausung von Gegenständen in geschlossenen Räumen (Kisten, Schränken, Kammern) in Frage. Hierzu zählen viele aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe und ihre Halogensubstitutionsprodukte, Phenole, Äther, Ester, Salizylaldehyd, Eukalyptol, Cyklohexan usw. Welche der zahlreichen in Betracht kommenden, aus Tabelle 19 unschwer zu entnehmenden Verbindungen für den betreffenden Zweck am besten geeignet ist, hängt ab von den zu behandelnden Gegenständen, der Dichtigkeit des Behältnisses, der für die Anwendung zur Verfügung stehenden Zeit und den Kosten, die aufgewandt werden können.

d) Solche Stoffe, deren Wirkung mehr oder weniger schnell eintritt und sich auch bei kräftiger Belüftung lange erhält. Derartige Mittel würden sich zur Entlausung und zur Freihaltung offen liegender Gegenstände und schwer abdichtbarer Räume und Örtlichkeiten von Läusen eignen; hierfür würden namentlich die Kresole und ihre Zubereitungen, ferner andere Phenole und Halogenphenole, Phenoläther (Eugenol), aromatische Basen (Anilin, Xylidin, Chinolin), ferner Naphthalin vielleicht mit Erfolg zu verwenden sein.

5. Ein Parallelismus zwischen Flüchtigkeit und Giftwirkung organischer Verbindungen besteht nicht. Im allgemeinen allerdings wirken die meisten schwer flüchtigen Stoffe kaum giftig, es haben sich aber auch gerade unter den besonders flüchtigen Verbindungen solche von geringer Wirkung gefunden (Klasse a unter Punkt 3), während einzelne der schwer flüchtigen Stoffe dagegen eine erhebliche Wirkung zeigten (Klasse d unter 3).

Wesentlicher als die Leichtflüchtigkeit ist daher die spezifische Giftigkeit der Verbindung, wie sie namentlich gewissen Körperklassen der aromatischen Reihe wie Kohlenwasserstoffen, Phenolen und Phenoläthern in besonders hohem Grade im Vergleich mit den entsprechenden aliphatischen Verbindungen zukommt. Auch zwischen der Fähigkeit zu betäuben und abzutöten besteht keine strenge Beziehung. Es wurden Stoffe gefunden, die sehr schnell betäubend wirkten, aber nur sehr langsam oder auch gar nicht die Läuse abtöteten (namentlich Kohlenwasserstoffe und ihre Halogenverbindungen, der Äthyläther, Schwefelkohlenstoff, der Essigester u. a.) und solche, bei denen Betäubung und Abtötung fast zusammenfielen (Phenole, Cumol, Ameisen- und Benzoesäureäthylester).

6. Eine Reihe bisher viel empfohlener Stoffe hat sich bei den angewandten Versuchsanordnungen auch unter günstigen Bedingungen nur von geringer Wirkung erwiesen, so namentlich Schwefelkohlenstoff, Äther, die ätherischen Öle, das para-Dichlorbenzol.

7. Bezüglich der Anwendungsform ist zu beachten, daß die Dämpfe der Mittel meist sehr schwer sind und daher in der Luft nach unten sinken. Es empfiehlt sich daher, solche Stoffe bei der praktischen Verwendung, um eine gleichmäßige Verteilung der Dämpfe zu erreichen, möglichst hoch anzubringen. Außerdem sind sie aber auch zwischen den zu entlausenden Flächen zu verteilen, da die Fähigkeit der Dämpfe, in Ecken und Taschen zu diffundieren, gering ist.

8. Bei den Versuchen wurde keine Verbindung gefunden, deren spezifische Giftigkeit für Läuse bei Ungiftigkeit oder Erträglichkeit der Anwendung für den Menschen so groß war, daß die Wirkung unter allen für sie in Betracht kommenden Umständen als sicher zu bezeichnen wäre. Vielmehr setzen Flüchtigkeit und geringe Diffusion in Ecken und Winkel die Wirksamkeit der meisten Stoffe herab, meist erschweren auch Geruch und Reizwirkung auf die Haut und Schleimhäute die Anwendung größerer Mengen. Die Anwendung aller dieser Mittel kommt daher nur als Notbehelf und nur dann in Betracht, wenn die Ausgasung mit schwefliger oder Blausäure, sowie die Anwendung von trockener oder feuchter Hitze oder die Behandlung mit läusetötenden Lösungen nicht angängig sind. In diesen Fällen wird man aber

auch auf solche Mittel zurückgreifen und bei richtiger Auswahl und zweckentsprechender Anwendung der geeigneten Verbindungen von ihnen mit Erfolg Gebrauch machen können.

II. Die Wirkung von Lösungen auf Läuse und Nisse.

Für Wäschestücke und ablegbare Kleidungsstücke, die während der Behandlungs- und Trocknungszeit entbehrt werden können, ferner für Möbel und andere Einrichtungsstücke, für Fußböden und Wände, erscheint für die einmalige Entlausung eine Behandlung mit Lösungen von läusetötenden Mitteln zweckmäßiger, bequemer und sicherer, als mit den Dämpfen organischer Verbindungen, deren Anwendung im I. Teil der Arbeit besprochen worden ist. Wäsche, Kleider und Ausrüstungsstücke (Lederzeug, Mützen usw.) können dabei in die Lösungen eingelegt, Möbel, Fußböden, Wände usw. wiederholt mit den Lösungen bestrichen und während längerer Zeit in einem Zustand kräftiger Befeuchtung erhalten werden.

Es wurden daher eine Anzahl anorganischer Salze, ferner Natriumsalze organischer Säuren, Alkohole, Narkotika, organische Säuren, namentlich aber Karbolsäure und Rohkresol in wässeriger Lösung auf ihr Läusetötungsvermögen geprüft. Die Wirkung von Karbolsäure und Rohkresol wurde auch gegenüber Nissen in mehreren Versuchen geprüft, da sich diese Stoffe gegen Läuse besonders bewährt hatten. Die Versuche wurden meist mit Lösungen von Zimmertemperatur, in einzelnen Fällen außerdem auch bei 30, 40 und 50° C angestellt, um den Einfluß der Erwärmung auf die Wirksamkeit namentlich schwächerer Konzentrationen zu prüfen.

Von wesentlichem Einfluß für die praktische Verwertbarkeit von läusetötenden Lösungen ist, ob diese bei den Versuchen Wolle und andere Stoffe, auch wenn sie fetthaltig sind, gut benetzen und durchdringen. Ist die Benetzung nur eine unvollständige, so bilden sich Luftblasen, die einen Zutritt der Lösungen zu den Läusen und Nissen hindern und diese vor der Einwirkung der Gifte schützen. Stoffe von ungenügendem Benetzungsvermögen dürften von der praktischen Anwendung der Unsicherheit der Wirkung wegen auszuschließen sein. Diese Eigenschaft der Lösungen ist daher in den Tabellen jeweils miterwähnt.

Versuchsanordnung.

Die Läuse wurden meist jeweils zu 10, in einzelnen Versuchen aber auch bis zu 50 Stück auf entsprechend große Wollläppchen aufgesetzt und diese in Glasschalen mit den zu prüfenden Lösungen übergossen. Die Läuse hielten sich in der Lösung fast alle an den Wollfasern fest und blieben daran auch haften, wenn sie abgetötet waren. Nach bestimmten Zeiten wurde je ein Läppchen entnommen, unter Wasser durch mehrfaches Ausdrücken von dem anhaftenden Gift befreit, in Glasschälchen eingelegt und bei Zimmertemperatur während 24 Stunden daraufhin beobachtet, ob die Läuse sich bewegten oder durch mechanische Reize zu Bewegungen zu bringen waren. In einzelnen Fällen, namentlich bei Versuchen mit Kresol, erholten sich scheinbar tote Läuse im Lauf einiger Stunden wieder.

Mehrstündiger Aufenthalt der Läuse in Wasser und in indifferenten Lösungen hebt die Bewegungsfähigkeit der Läuse nicht auf, sie bewegen sich unmittelbar nach der Herausnahme der Läppchen aus den Flüssigkeiten fast ebenso unbehindert, wie vor dem Versuche.

Bei den Versuchen mit Nissen wurden die damit besetzten Stellen aus den betreffenden Kleidungsstücken ausgeschnitten. Diese Zeugstückchen sind dann ebenso in Schalen mit aufgeschliffenem Deckel mit den zu prüfenden Lösungen übergossen, nach bestimmten Zeiten entnommen und mit reinem Wasser zur Entfernung des anhaftenden Mittels gewaschen worden, wie es bei den mit Läusen besetzten Wollstückchen beschrieben ist. Da diese mit Nissen besetzten Zeugstückchen fast durchweg sehr stark beschmutzt und fettig sind, zeigt sich bei den Versuchen mit ihnen besonders stark, wie nötig es ist, daß die zur Entlausung angewandten Lösungen die Stoffe befeuchten und durchdringen; denn in Wasser und in Lösungen nicht benetzender Stoffe, wie anorganischer Salze, schwimmen derart beschmutzte Zeugstückchen zunächst auf der Flüssigkeit und werden nur langsam und vermutlich unvollständig von der Flüssigkeit benetzt.

Die mit Nissen besetzten Zeugstückchen wurden nach der Behandlung und Waschung zunächst in offene Doppelschälchen gelegt und die Schälchen erst geschlossen, wenn die Zeugstückchen an der Luft trocken geworden waren. Die verschlossenen Schälchen wurden dann 2 Wochen lang im Brutschrank bei 26° C gehalten und zunächst täglich, nach 10 Tagen alle 2 Tage darauf nachgesehen, ob junge Läuse aus den Nissen ausgekrochen waren. Sie wurden zu diesem Zwecke mit der Lupe daraufhin durchgesehen, ob sich an ihnen die Kadaver junger, während der Bebrütung ausgekrochener und eingegangener Läuse oder noch lebende junge Tiere befanden. Die ausgekrochenen Läuse wurden mit der Pinzette entfernt und die Zahl der so gefundenen Tiere vermerkt. Selbstverständlich waren die Zeugstückchen vor dem Einlegen in die Lösungen von allen anhaftenden Tieren befreit worden; bei den Versuchen mit kresolhaltigen Lösungen wäre ein vorheriges Ablesen der Läppchen allerdings nicht unbedingt nötig gewesen, da die in der Kresollösung abgetöteten Tiere sich schon durch die dabei auftretende Rotfärbung von den nachträglich aus den Nissen ausgekrochenen Läusen unterscheiden. Gezählt wurden nur lebende, kleine Läuse, unbewegliche nur dann, wenn sie ganz hellgefärbt und sichtlich in der Zwischenzeit seit der letzten Beobachtung ausgekrochen und dann verhungert waren. Um eine Schädigung der Nisse durch Austrocknung im Brutschrank zu verhindern, wurde jeden zweiten Tag mit einer Pipette ein kleiner Tropfen Wasser in die Schale gebracht, so daß die Luft stets einen gewissen Feuchtigkeitsgehalt hatte. An Stücken aus stark beschmutzten Hemden entwickelte sich dann allerdings unter dem Einfluß der feuchten Wärme häufig ein üppiger Schimmelrasen, der die weitere Beobachtung und Zählung der ausgekrochenen Läuse erschwerte, in einzelnen Fällen auch ganz unmöglich machte.

In jeder Versuchsreihe wurden von dem zu untersuchenden Kleidungsstück eine Anzahl in gleicher Weise mit Nissen besetzter Zeugstückchen als Kontrollen ohne vorhergehende Behandlung mit Lösungen ebenso während dieser Zeit im Brutschrank gehalten und wie angegeben von Zeit zu Zeit auf das Auskriechen der Tiere beobachtet.

Tabelle 20. Versuche über die Einwirkung anorganischer und organischer Salze auf **Läuse**.

Geprüftes Salz	% Gehalt der Lösung	Läuse	Einwirkungszeit in Minuten 10	20	30	40	50	60	90	120	Bemerkungen
Zinksulfat	5	I	++	++	+++	++		++	+++	++	schlechte Benetzung
Kupfersulfat . . .	5	I	++	++	+	+	++	+++	++	+	
Baryumchlorid . . .	5	I	+++	++	++	+	++	+++	+++	+	
Quecksilberchlorid .	0,1	I	++	++	+++	+	++	++	++	+	
Benzoesaures Natrium	5	I	++	++	++	++	++	++	++	++	
Salizylsaures „	5	I	++	++	++	++	+	++			
Benzolsulfosaures „	5	I	++	++	++	++	++	++	++	++	gute Benetzung
Naphthalinsulfosaures Natrium	3	I	++	++	++	++	++	++	++	++	sehr gute Benetzung
Ölsaures Natrium . .	1	I	++	++	++	++	++	++	++	+	desgl.
Nitrobenzolsulfosaures Natrium	5	II	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	Abtötung in 180 Minuten
Sulfanilsaures Natrium	5	II	++	++	++	++	++	++	++	+	
Phenolsulfosaures „	5	II	++	++	++	+++	+++	++	++	++	
Trikresolsulfosaures „	5	II	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	
Kresotinsaures „	5	III	++	++	++	++	++	++	++	++	
Kontrolle in Wasser		I	+++	++	+	++	++	+++	+++	++	
Natriumhydroxyd . .	2	II		–	–	–	–	–			
„ . . .	1	II		++	++	++		+			

Geprüftes Salz	% Gehalt der Lösung	Läuse	Einwirkungszeit in Minuten 60	75	90	120	150	180	210	240	Bemerkungen
Quecksilberchlorid .	0,1	IV	+++	+++	++	+	+	+	+	+	Benetzung sehr schlecht
Quecksilberchlorid mit Zusatz von 0.1 % Saponin .	0,1	IV	+++	++	++	+	+	+	+	+	Benetzung etwas besser, aber ungenügend
Salizylsaures Natrium	5	IV	+++	++	++	++	++	+	+		Benetzung schlecht
β-naptholsulfosaures Natrium	2	IV	+++		++	++	++	++	+	++	

Die dabei festgestellten Zahlen von ausgekrochenen Tieren sind in einer kleinen Übersicht im Anschluß an Tabelle 23 zusammengestellt. Die römischen Ziffern (I, II usw.) verweisen auf die entsprechenden Versuchsreihen bei den behandelten Nissen.

Ergebnisse der Versuche mit Läusen.

Schwermetallsalze, wie Zink- und Kupfersulfat und auch Baryumchlorid, töten Läuse bei zweistündiger Einwirkung selbst in 5%iger Lösung nicht ab und

Tabelle 21. Einwirkung von wässerigen Lösungen organischer Verbindungen (außer Kresolen) auf **Läuse.**

	Läuse	Einwirkungszeit in Minuten													Bemerkungen
		5	10	15	20	25	30	45	60	75	90	120	150	180	
25%iger Alkohol	II	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+ +	+	+	+	+	(+)	+	Benetzung gut, um so rascher, je höher der Alkoholgehalt.
50 „ „	II	+	+ +	+ +	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	
75 „ „	II	+ +	+ +	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
50%iger Methylalkohol	II		+ +		+ +		+ +	+ +	+		+	(+)	+		Benetzung gut.
50%iges Aceton	II		+ +		+		+	—	—		—	—	(+)		
1%iger Amylalkohol	II		+ +		+ +		+ +	+ +	+		—	+	—		
Gesättigte Lösung von Äther in Wasser . . .	II		+ +		+		+ +	+ +	+ +		+	+	+ +		Benetzung schlecht.
Desgl. von Chloroform in Wasser	II		+ +		+		(+)	+	+ +		+ +	+	+		
2%ige Anilinlösung in Wasser	II		+ +		—		—	—			—	—	—		
2%ige Anilinlösung in Wasser	III	+	—	—	—	—			—		—	—	—		
1%ige Essigsäure	II		+ +		+ +		+	+	+	+	+	+ +	+ +		Benetzung schlecht.
0,5 „ „	II		+ +		+ +		+ +	+	+	+ +	+ +	+ +	+		
1%ige Ameisensäure	II		+ +		+ +		+ +	+ +	+ +		+ +	+	+ +		
0,5%ige Ameisensäure	II		+ +		+		+	+ +	+		+	+ +	+ +		
3%ige Karbolsäure	I	+ +	+	+	—		—	—					—	—	Benetzung gut.
5%ige Karbolsäure	I	+	—	—	—		—			—	—	—	—	—	
3%ige Karbolsäure	IV	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—			
5%ige Karbolsäure	IV	+	—	—	—	—	—	—	—			—			
[illegible]%ige Karbolsäure	VI						—	—	—			—			
5%iges Natriumphenolat . . .	II			+ +					—	—	+	—	—		
5%iges Natrium-meta-kresolat	II			+ +				+ +		+		+	—	+	
5%iges Natrium-β-naphtholat . .	II			+ + +			+ + +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +		+ +	

benetzen die Läppchen sehr schlecht — siehe Tabelle 20. Auch das Sublimat tötete in 0,1%iger Lösung Läuse nicht in 2 Stunden und in einem zweiten Versuche selbst nicht in 4 Stunden ab, auch die Zugabe von Saponin, das bekanntlich die Benetzungsfähigkeit etwas verbessert, erhöht das Abtötungsvermögen der Lösung nicht.

Salze von organischen Säuren, die selbst ziemlich giftig sind, wie Benzoesäure, Salizylsäure, Sulfanilsäure, Phenol- und Kresolsulfosäure, Kresotinsäure oder deren Muttersubstanzen (Phenol, Kresol, Anilin) stark länsetötend wirken, erwiesen sich in 3—5%iger Lösung in 2 Stunden fast durchweg wirkungslos gegenüber Läusen. Seife (ölsaures Natrium) wirkt gleichfalls nicht in dieser Zeit auf Läuse in 1%iger Lösung.

Auch die Alkohole — siehe Tabelle 21 — haben geringes Tötungsvermögen gegenüber Läusen, wenn diese in deren wässerigen Lösungen untergetaucht werden. 25%iger Äthylalkohol tötete Läuse in 180 Minuten nicht immer, der 50%ige sicher erst in 60, der 75%ige in 25 Minuten; dabei war die Benetzungsfähigkeit dieser Lösungen gut und nahm mit der Konzentration noch zu. 50%iger Methylalkohol tötete Läuse in 150 Minuten nicht mit Sicherheit, dagegen wirkte in dieser Zeit der 4%ige Amylalkohol. 50%ige Acetonlösung in Wasser machte Läuse in 45 Minuten bewegungslos, aber selbst nach 150 Minuten Einwirkung war eine Laus noch nicht abgetötet; die Benetzungsfähigkeit der Lösung war gut. Diese Befunde sind auffallend, da alle diese Alkohole und auch das Aceton starke Narkotika für pflanzliche und tierische Zellen sind und der Methyl- und Äthylalkohol in diesen Konzentrationen auf Bakterien erheblich stärker wirken.

Noch überraschender aber war es, daß auch die gesättigten wässerigen Lösungen zweier starker Narkotika, nämlich des Äthers und des Chloroforms, die in Dampfform ziemlich kräftig auf Läuse einwirken, in 150 Minuten Läuse, die in ihnen untergetaucht sind, nicht abtöten. Die Benetzungsfähigkeit der Lösungen gegenüber dem angewandten Wollstoff war allerdings gering, doch hatte dieser Umstand die Wirkung anderer Lösungen gegenüber den Läusen bei so langer Einwirkung nicht völlig gehindert.

Eine 2%ige Anilinlösung in Wasser z. B. brauchte gleichfalls einige Zeit, um den Wollstoff ganz zu durchdringen und tötete Läuse doch in 2 Versuchen in längstens 20 Minuten ab; Anilin hatte auch in Dampfform sich als starkes Läusetötungsmittel erwiesen.

Ameisensäure und Essigsäure waren in 1%iger wässeriger Lösung in 150 Minuten unwirksam.

Die Karbolsäure erwies in 3- und 5%iger Lösung sich sehr rasch wirksam und hatte auch gute Benetzungsfähigkeit gegenüber Wolle.

Noch stärkere Wirkung entfaltete das Rohkresol, das in diesen Versuchen schon in 1%iger, rein wässeriger Lösung die Läuse in längstens 30 Minuten abtötete — siehe Tabelle 22 —. Geprüft wurde das Rohkresol außer in rein wässeriger auch in solchen Lösungen, in denen die Leichtigkeit und Schnelligkeit der Herstellung der Lösungen durch Anwendung von Seifen (Kresolseifenlösung), kresotinsaurem Natrium (Kresotin-Kresol) und anderen Salzen organischer Säuren erhöht war. Die betreffenden Salze für sich allein waren in wässeriger Lösung wirkungslos gegen Läuse — siehe Tabelle 20 —. In allen diesen Fällen war die Abtötung der Läuse durch 2,5% Kresol enthaltende Lösungen in 5 Minuten, durch 2%ige in 10 Minuten, durch 1,5%ige in 15 und durch 1%ige in längstens 30 Minuten eingetreten, gleichgültig ob das Kresol in Wasser, in Seife oder Salzen organischer Säuren gelöst war. Eine 0,5% Kresol enthaltende wässerige Lösung des Kresols tötete Läuse aber erst in 60 Minuten.

Eine Ausnahme von dieser starken Wirksamkeit von Kresollösungen machten nur die alkalisch reagierenden Verdünnungen von Kresollaugen, die bei einem Gehalt von 2,5% Kresol langsamer wirkten, als Lösungen von gleichem Kresolgehalt

Tabelle 22. Einwirkung von **Kresol** in verschiedenen Lösungsmitteln und bei verschiedenem Gehalt auf **Läuse.**

Lösung von Kresol von °/₀	Lösung von Kresol in	Läuse	Einwirkungszeit in Minuten 5	10	15	20	25	30	45	60	75	90	120	150	Bemerkungen
2,5	Seife	I	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	Benetzung sehr gut
2,5	benzolsulfosaurem Natrium	I	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	Benetzung gut
2,5	naphthalinsulfosaurem Natrium	I	—	—	—	—		—	—	—	—	—	—	—	Benetzung gut
2,0	Wasser	II	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		Benetzung sehr gut
1,0	„	II	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—		Benetzung sehr gut
0,5	„	II	+	+ +	+	+	+	—	(+)	—	—	—	—	—	Benetzung gut
2,5	Seife	IV	+ +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2,5	in Form von Kresollange mit Gehalt von 15 °/₀ Natriumhydroxyd	IV	+ +	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2,5	in Form von Kresollange mit Gehalt von 12,5 °/₀ Natriumhydroxyd	IV	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2,5	in Form von Kresollange mit Gehalt von 10 °/₀ Natriumhydroxyd	IV	+ +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2,5	in Form von Kresollange mit Gehalt von 7,5 °/₀ Natriumhydroxyd	IV	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2,5	naphthalinsulfosaurem Natrium	IV	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1,5	benzolsulfosaurem Natrium	V	+ + +	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1,5	naphthalinsulfosaurem Natrium	V	+ +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1,5	salizylsaurem Natrium	V	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1,5	kresotinsaurem Natrium	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1,0	kresotinsaurem Natrium	VI						—		—		—	—		
1,0	Wasser	VI						—		—		—	—		
1,0	kresotinsaurem Natrium bei 20°	VII			—			—		—		—	—		Versuche mit je etwa 50 Läusen bei verschiedenen Temperaturen
1,0	Wasser bei 20°	VII			—			—		—		—	—		
0,5	kresotinsaurem Natrium bei 30°	VII			4 lebend			—		—		—	—		
0,5	Wasser bei 30°	VII			8 lebend			—		—		—	—		
0,5	kresotinsaurem Natrium bei 40°	VII			—			—		—		—	—		
0,5	Wasser bei 40°	VII			—			—		—		—	—		
0,25	kresotinsaurem Natrium bei 50°	VII			—			—		—		—	—		
0,25	Wasser bei 50°	VII			1 lebend			—		—		—	—		

in Seife, benzolsulfosaurem und beta-naphthalinsulfosaurem Natrium. Das geringste Läusetötungsvermögen hatte die alkalireichste Verdünnung, die aus einer 50% Kresol und 15% Natriumhydroxyd enthaltenden Lauge hergestellt war. Dieses Verhalten der Kresollaugen gegenüber Läusen stimmt überein mit demjenigen gegen Bakterien; auch diese werden durch Verdünnungen von Kresollaugen in geringerem Grade geschädigt, als durch neutral reagierende Kresollösungen bei gleichem Gehalt an Kresol und zwar um so weniger, je höher der Alkaligehalt der Verdünnung bei gleichem Kresolgehalt ist (Hailer[1]).

Diesem Verhalten entsprechend haben auch die Natriumsalze des Phenols, meta-Kresols und beta-Naphthols viel schwächere Wirkung gegenüber Läusen als die betreffenden freien Phenole (siehe Tabelle 21 am Schluß).

Versuche mit Nissen. Nachdem die Versuche an Läusen ergeben hatten, daß Lösungen von Karbolsäure und Rohkresol in erster Linie zu ihrer Vernichtung an Kleidungsstücken usw. in Betracht kommen, wurden zu den Versuchen an Nissen nur Lösungen dieser beiden Mittel benützt und zwar wurde das Rohkresol sowohl in rein wässerigen Lösungen geprüft als auch in solchen von Seife und anderen Salzen organischer Säuren — siehe Tabelle 23 —. Nach einer 30 Minuten dauernden Behandlung der Nisse mit Lösungen von 1,0—2,5% Kresol war die Entwicklungsfähigkeit der Eier vernichtet; nur in einem Falle wurde das Auskriechen einer Laus nach $^3/_4$ stündiger Einwirkung einer 1,5%igen Lösung von Kresol in salizylsaurem Natrium beobachtet.

Nisse waren also gegen Kresollösungen nicht widerstandsfähiger als Läuse.

Auch die Karbolsäure hatte in 3%iger Lösung die Nisse abgetötet.

Versuche mit Lösungen von Rohkresol bei erhöhter Temperatur. Es war schließlich bei den Versuchen auch geprüft worden, ob und in wie weit durch Temperaturerhöhung die Wirksamkeit von Kresollösungen so gesteigert werden kann, daß eine Herabsetzung der Kresolkonzentration möglich ist. Die Versuche wurden in großen Glasschalen mit aufgeschliffenem Deckel angestellt, die in Flüssigkeitsthermostaten eingesetzt waren. Die Temperatur wurde innerhalb von weniger als einem Grad C. konstant erhalten. Die Läuse und Nissen wurden an Woll- bezw. den ursprünglichen Zeugstückchen in die schon auf die Versuchstemperatur erwärmten Lösungen eingebracht und nach der Entnahme ebenso behandelt, wie es schon bei den Versuchen bei gewöhnlicher Temperatur beschrieben ist.

Während Läuse bei 30° nicht in 15 Minuten durch 0,5% Kresol enthaltende Lösungen abgetötet wurden — s. Tabelle 22 am Ende — büßten die Nisse, die in großer Zahl dieser Behandlung ausgesetzt wurden — siehe Tabelle 23 und das Verzeichnis der Kontrollen im Anhang zu dieser Tabelle — in dieser Zeit sämtlich ihr Entwicklungsvermögen ein. Die Läuse wurden unter diesen Bedingungen erst in 30 Minuten abgetötet. Bei Zimmertemperatur wirkte dagegen 0,5%ige wässerige Kresollösung erst in 60 Minuten abtötend auf Läuse (s. Tab. 22).

Bei 40° genügte gegenüber Läusen und Nissen eine 15 Minuten dauernde Behandlung mit 0,5%igen Kresollösungen zur Abtötung. Bei 50° wirkte eine 0,25%ige

[1]) Hailer, Arbeiten a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 51, S. 556. 1919.

Tabelle 23. Versuche über die Einwirkung von Karbolsäure und Kresol in verschiedenen Lösungsmitteln auf Nisse.

Lösung	% Gehalt	Läuse	Zahl der ausgekrochenen Läuse nach einer Einwirkungszeit von Minuten							
			15	30	45	60	75	90	105	120
Karbolsäure	8	II	1	—						
Kresol in salizylsaurem Natrium	1,5	I	—	—	1	—	—	—	—	—
„ „ kresotinsaurem Natrium	1,5	I	—	—	—	—	—	—	—	—
„ aus Kresollauge mit 50% Kresol und 15% Natriumhydroxyd	1,5	I	—	—	—	—	—	—	—	—
„ in Wasser	1,5	I	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ Seife	2,5	I	—	—	—	—	—	—	—	—
„ „ kresotinsaurem Natrium	1,0	II	—	—						
„ „ Wasser	1,0	II	—	—						
„ „ kresotinsaurem Natrium	1,25	II	—	—						
„ „ Wasser	1,25	II	—	—						
„ „ kresotinsaurem Natrium	1,5	II	—	—						
„ „ Wasser	1,5	II	—	—						
„ „ Seife	2,5	II	—	—						
„ „ kresotinsaurem Natrium	1,0	III		—						
„ „ Wasser	1,0	III		—						
„ „ kresotinsaurem Natrium	1,0	IV		—		—		—		
„ „ „ „	1,25	IV		—		—		—		
„ „ „ „	1,5	IV		—		—		—		
„ „ Wasser	1,0	IV		—		—		—		
„ „ „	1,25	IV		—		—		—		
„ „ „	1,5	IV		—		—		—		
„ „ Seife	2,5	IV		—		—		—		
„ „ kresotinsaurem Natrium bei 20°	1,0	V	—	—	—	—		—		
„ „ Wasser bei 20°	1,0	V	—	—	—	—		—		
„ „ kresotinsaurem Natrium bei 30°	0,5	V	—	—	—	—		—		
„ „ Wasser bei 30°	0,5	V	—	—	—	—		—		
„ „ kresotinsaurem Natrium bei 40°	0,5	V	—	—	—	—		—		
„ „ Wasser bei 40°	0,5	V	—	—	—	—		—		

Zahl der in den unbehandelten Kontrollen ausgekrochenen Nissen.

Bei Nissen der Herkunft	sind insgesamt auf den unbehandelten Kontrolläppchen ausgekrochen				
I	11	16	13		
II	110	120	73	57	
III	38	21			
IV	4	7			
V	455	30	98	77	175

Kresollösung in 15 Minuten nicht mit Sicherheit auf Läuse, wohl aber in 30 Minuten.

Bei Temperaturerhöhung kann sonach die Konzentration von Kresollösungen ohne Beeinträchtigung der Wirkung auf Läuse und Nisse erheblich herabgesetzt werden.

Zusammenfassung der Ergebnisse von Teil II:

Anorganische Salze, auch Sublimat, und Salze organischer Säuren wirken innerhalb der unter den Verhältnissen der Praxis für die Entlausung von Kleidungs- und Wäschestücken usw. in Betracht kommenden Zeiten nicht oder nicht sicher abtötend auf Läuse.

Auch Alkohole, Aceton, Äther, Chloroform und organische Säuren hatten in den angewandten wässerigen Lösungen nur geringe Wirkung auf Läuse.

Dagegen wirkten Anilin, Karbolsäure und Rohkresol sehr kräftig auf Läuse, die beiden letzteren auch gegenüber Nissen. Von Karbolsäure genügt eine 3%ige, von Rohkresol eine 1%ige Lösung, um in einer halben Stunde unter den einfachen Verhältnissen des Versuchs bei Zimmertemperatur Läuse und Nisse abzutöten. Bei Erhöhung der Temperatur auf 30—40° C kann die Kresolkonzentration auf 0,5% herabgesetzt werden.

Nisse waren gegen Kresollösungen nicht widerstandsfähiger als Läuse.

Rohkresol und Karbolsäure erscheinen daher in wässeriger Lösung gut geeignet zur Vernichtung von Läusen und Nissen an Kleidungs- Wäsche- und Ausrüstungsstücken, die in diese Lösungen eingelegt werden, und an Möbeln, Fußböden, Wänden usw., die mit diesen Lösungen gründlich und wiederholt zu befeuchten sind. In der Praxis wird man die Einwirkungszeit selbstverständlich wesentlich erhöhen, doch dürfte eine zweistündige Einwirkung 5%iger Karbolsäure oder 1%iger Rohkresollösung bei gewöhnlicher Temperatur ausreichend sein.

Die Benetzungsfähigkeit der Lösungen für getragene und beschmutzte Kleider und Wäsche, die in der Praxis eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Desinfektion spielt, ist bei den Kresollösungen in Wasser und in Lösungen organischer Salze (Seife, kresotinsaurem Natrium usw.) eine befriedigende, während Lösungen von Sublimat und anderen anorganischen Salzen, von Ameisen- und Essigsäure usw. die Stoffe nur schlecht und langsam durchdringen.

Untersuchungen über Hefenährböden[1]).

Von

Priv.-Doz. Dr. med. K. W. Jötten,
früherem wissenschaftl. Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Die durch den Weltkrieg bedingte Knappheit an Fleisch hat in den letzten Jahren bei der Herstellung der Bakterien-Nährböden schon mehrfach zu Bestrebungen geführt, einen vollwertigen Ersatz für die Fleischbouillon zu finden, da die Beschaffung der dazu erforderlichen Menge Rindfleisch recht kostspielig und überaus schwierig ist. Infolge der Ernährungsschwierigkeiten muß alles Fleisch, selbst früher wertlose Fleischabfälle und die Dampfsterilisatorbrühe von bedingt tauglichem Fleisch (Stolp 1) heute fast vollständig für Ernährungszwecke Verwendung finden. In vielen Laboratorien ist man schon aus diesen Gründen zur Verwendung von Pferdefleisch oder Fleischextrakt übergegangen, leider machen sich aber auch hier dieselben Schwierigkeiten und Bedenken geltend. Auch die früher empfohlenen animalischen Eiweißpräparate wie Peptonkochsalzlösung, Maggis gekörnte Fleischbrühe (Hart 2), Maggibouillon (Ragitagar n. Marx 3). Nährstoff Heyden, Nutrose, Tropon, Glukose, Somatose, Sanatogen, Bioson usw. bieten, wie Gassner (4) berichtet, keinen vollen Ersatz. Ebenso kommt der hierzu angegebene Gebrauch von Blutkuchen (Szasz 5, Schmitz 6, Lichtenstein 7, Langer 8), von menschlichen resp. tierischen Exsudaten, von Se- und Exkreten, wie Harn (Heller 10, Piorkowski 11), Ascites und Hydrocelenflüssigkeit (Cantani 9), Milch (Raskin 12), Quarck (Köhlisch und Otto 13) usw. wegen der schwierigen Beschaffung und des zum Teil auch nur bedingten Wertes derartiger Nährböden für die allgemeine bakteriologische Praxis wenig in Frage. Ebensowenig kann das von Sobel (14) empfohlene Bier als Ersatz für Fleischbrühe wegen der von verschiedenen Seiten erzielten schlechten Ergebnisse in Betracht gezogen werden.

Abkochungen, Infuse oder Extrakte pflanzlicher Produkte, von Leguminosen und Cerealien sind früher schon häufiger anstelle der Fleischbrühe empfohlen worden, so Bohnenauszüge von Noblécourt (15), der Saft der gekochten Soja hispida von Sasai (16), Auszüge von Bohnen und Sojabohnen von Guth (17), Auszüge von Mohrrüben von Rochaix (18), von Makkaroni von de Lagerheim (19), von Kokosnüssen von Reiter (20) und von Mannan (Wurzel der Konjakupflanze) von Uyeda (21), Auf-

---

[1]) Als Habilitationsschrift der medizinischen Fakultät der Universität Leipzig vorgelegt. Dezember 1919.

güsse von Gerste, Weizen, Roggen, Hafer, Erbsen, Linsen usw. sind, wie von Heim (22) berichtet wird, gleichfalls angegeben und neuerdings wird die Verwendung von Ochsena (Pflanzenfleischextrakt) von Hirschbruch und Diehl (23) nahe gelegt und endlich das schon früher von Holz (24) angegebene Kartoffelwasser wieder von Gäthgens (25).

Alle diese pflanzlichen Ersatzmittel kommen nun wieder größtenteils für die menschliche Ernährung sehr in Frage, sodann stößt auch die Herstellung solcher Nährböden wegen des hohen Preises und der Unmöglichkeit der Bereitstellung größerer Mengen auf Schwierigkeiten. Außerdem dürfte das von den Fleischnährböden abweichende Verhältnis von Stickstoff und Kohlenstoffverbindungen ihre Verwendung in der allgemein bakteriologischen Technik unmöglich machen. Während nämlich die Fleischbrühe sehr eiweißreich ist und nur geringe Mengen Zucker enthält, zeigen Abkochungen, Aufgüsse oder Extrakte solcher pflanzlichen Produkte meist einen hohen Gehalt an Kohlehydraten und verwandten Stoffen, sind dagegen fast durchweg eiweißarm, entbehren also somit des für Bakterien erforderlichen Hauptnährstoffes, des Stickstoffgehaltes, der ihnen in der Fleischbrühe vom löslichen Eiweiß, wie Pepton und Leucin usw. geliefert wird Dieses Stickstoffbedürfnis kann aber auch durch Aminosäuren und Amide z. B. Asparagin, milchsaures Ammonium usw. gedeckt werden. Außerdem bedürfen die meisten Bakterien für ihr Wachstum noch des Kohlenstoffs, Wasserstoffs, Sauerstoffs, Phosphors und wenigstens eines Metalles (Kruse).

In Ermangelung der Fleischbrühe könnte man auch daran denken, durch Mischung dieser verschiedenen reinen Substanzen nach streng chemischen Gesichtspunkten Nährlösungen zusammenzustellen. Schon vor längerer Zeit hat dieses Pasteur (27) versucht, indem er zu Wachstumprüfungen bei anderen Organismen eine Mischung vou destilliertem Wasser, Hefeasche und weinsaurem Ammoniak mit oder ohne Zucker verwandte. Später haben dann auch Cohn (28), Uschinsky (29), Fränckel (30), Maassen (31), Proskauer und Beck (32) und A. Meyer (33) solche Salzlösungen angegeben. Sie sind im allgemeinen aber nur zu besonderen biologischen Studien verwandt worden und haben bei den verschiedensten geprüften Keimen nicht ganz einwandsfreie Wachstumergebnisse gezeitigt. Während z. B. auf der Fränckelschen Nährflüssigkeit zahlreiche saprophytische und pathogene Mikroorganismen in üppiger Weise angingen, war beim Typhusbacillus ein Wachstum kaum angedeutet und bei Staphylococcen-, Diphtherie- und Tetanusbazillen ein solches überhaupt nicht festzustellen. Ebenso oder ähnlich liegen die Verhältnisse bei den übrigen Nährlösungen, so berichtet z. B. Gaßner (4) über nicht sehr ermutigende Versuchsergebnisse, die er mit der Meyerschen Salzlösung selbst bei Zusätzen von Eiweißpräparaten bei Wachstumsprüfungen mit pathogenen Keimen zu verzeichnen hatte. Nach diesen Erfahrungen dürfte die Verwendung solcher synthetischer Salzlösungen für die allgemeine bakteriologische Praxis wohl kaum in Frage kommen.

Zur Deckung des Stickstoff- und Kohlenstoffbedarfs usw. müßte sich im Gegensatz zu den früher besprochenen pflanzlichen Extrakten, Aufgüssen oder Abkochungen nach neueren Erfahrungen die „Hefezelle“ besonders gut eignen, da sie nicht wie diese zum größten Teil aus Kohlehydraten, sondern wie das Fleisch aus Eiweißstoffen besteht und außerdem in der übrigen chemischen Zusammensetzung dem Fleische sehr

nahesteht. Hierauf wird schon von Voit (34) hingewiesen, der die Hefe nicht nur wegen ihres hohen Stickstoffgehaltes, sondern auch wegen der Zusammensetzung ihrer Eiweißstoffe als Futtermittel an Stelle von Fleisch empfiehlt.

Die trockene Hefezelle besteht unter Zugrundelegung von Mittelwerten meist zu ca. 70% aus Wasser, zu ca. 25—27,5% aus organischen Substanzen und zu 2,5% aus Aschenbestandteilen.

Der organische Teil ist nach dem Durchschnitt zahlreicher Elementaranalysen aus

49% C, 9,5% N, 6,5% H und 35% O

zusammengesetzt (Euler und Lindner 35). Diese Elemente sind an der Bildung der einzelnen organischen Komponenten derartig beteiligt, daß der größte Teil von ihnen, vor allem aber der Stickstoff zum Aufbau von Eiweißstoffen verwandt wird, die ungefähr $^2/_3$ der gesamten Trockensubstanz ausmachen, sodann zur Bildung von Kohlehydraten, von Fett, Fettsäuren und Glycerin und schließlich noch von Phosphatiden und Phytosterinen.

Die wichtigste Rolle unter den Zellbestandteilen der Hefe spielen die Eiweißstoffe, die nach Angaben Stutzers (36) z. B. bei der Bierhefe

zu 10,1% in Form von Peptonen und Aminosäuren,
zu 63,8% in Form von Eiweiß,
zu 26,1% in Form von Nucleinen

vorhanden sind und aus Albumosen, Globulinen, Muzinen, Nucleoalbuminen, Proteosen und Peptonen bestehen.

Das Hefeeiweiß liefert wie zahlreiche Analysen von Hahn und Geret (37), Kutscher (38), Wroblewski (39), Schenk (40), Schröder (41), und F. Ehrlich (42) ergeben haben, an Spaltprodukten: Leucin, d-Isoleucin, d-Valin, Phenylamin, Tyrosin, d-Glutaminsäure, Asparaginsäure, Lysin, Arginin, Histidin, Tryptophan, Cystin, Guanidin und Putrescin.

Die Nucleoproteide werden durch Alkalilauge in Eiweiß und Nucleinsäure gespalten, die ihrerseits wieder in ihre Komponenten, Phosphorsäuren, Purinbasen und Kohlehydrate zerfallen kann.

Die in der Hefezelle enthaltenen Kohlehydrate bestehen aus der Zellulose nahestehender Hemizellulose, die aus Mannose und Glukose aufgebaut ist, weiter aus Hefegummi einer Polyose, die gleichfalls Mannose und Glukose enthält, sodann aus Glykogen, dem best bekannten höheren Kohlehydrat der Hefe. Es vertritt in den Hefezellen die Stärke wie in vielen Bakterien.

Das Fett, das in Form kleiner Tropfen in der Hefezelle gefunden wird, setzt sich aus Neutralfett und freien Fettsäuren wie Stearin- und Palmitinsäure und gelegentlich auch aus Buttersäure zusammen. Durch Spaltung des Fettes tritt neben den freien Fettsäuren auch Glycerin auf, das aber nach Beobachtungen von Buchner und Meisenheimer (43) auch aus den Spaltprodukten des Zuckers hervorgehen kann.

Wie in fast allen lebenden Zellen sind in der Hefe außerdem Phosphatide in Form von Lecithin (Di-palmityl-cholin-lecithin) von Hoppe und Seyler (44) festgestellt worden, das nach Koch (45) dem Kephalin des Gehirns nahestehen soll. Schließlich sind noch als Bestandteile der Plasmahaut Phytosterine sog. Zellipoide nach-

gewiesen, die dem Cholesterin des Tierkörpers verwandt resp. homolog sein sollen, und endlich noch das in die Pyrimidinreihe gehörende Vitamin.

Außer diesen organischen Substanzen finden sich in der Hefeasche leicht nachweisbare anorganische Verbindungen, die zu ca. 50% aus Phosphorsäure, zu ca. 30% aus Kalium, zu ca. 1% aus Natrium und Eisen bestehen, das zumeist organisch in Hefenukleinsäure als Nucleoproteid gebunden ist. Außerdem kamen darin meist geringe Mengen Magnesium und hinundwieder auch Sulfate und Calcium vor.

Vergleicht man nun die Zusammensetzung des zur Nährbodenbereitung verwandten Fleisches mit der der Hefe, so ist, wie aus der beigefügten Nebeneinanderstellung leicht zu ersehen ist, eine weitgehende Übereinstimmung vorhanden.

Fleisch:		Hefe:	
Wasser	ca. 76%	Wasser	ca. 70%
Eiweiß	ca. 20%	Eiweiß	ca. 19%
Fett	ca. 1,5%	Fett	ca. 1,5%
Kohlehydrate: Spuren von Glykogen und Inosit		Kohlehydrate	ca. 6—7%
Extraktivstoffe		Phosphatide, Phytosterine, Vitamin	
Asche	ca. 1—2%	Asche	ca. 2,5%

Die Prozentzahlen für den Gehalt an Wasser, Eiweiß, Fett und Aschenbestandteilen sind fast die gleichen, nur bei den Kohlehydraten macht sich ein erheblicher Unterschied insofern bemerkbar, als das Fleisch meist nur Spuren von Glykogen und daraus gebildetem Zucker und Jnosin aufzuweisen hat, während die Hefe Kohlehydrate durchschnittlich zwischen 6—7% enthält. Außerdem finden sich im Fleisch noch Harnstoff und Harnstoffderivate, die die Hefezelle nicht beherbergt.

Die Fleischeiweißstoffe dagegen, die die Hauptnahrung für die Bakterien darstellen, sind, wie bereits früher Voit feststellen konnte, denen der Hefe überaus ähnlich und sind wie bei dieser in der Hauptsache aus Albuminen, Globulinen, Mucinen, Nucleinen, Albumosen und Peptonen aufgebaut. Ebenso stimmt die Zusammensetzung der Fette größtenteils überein, die bei beiden hauptsächlich aus Palmitin- und Stearinsäure, gelegentlich auch aus Buttersäure bestehen. Im Fleisch findet sich außerdem noch Oleinsäure.

Auch die Fleisch- und Hefeasche zeigen fast dieselben Bestandteile, indem beide in der Hauptsache Phosphate, Kalium, Natrium und geringe Mengen Magnesium und Calcium aufweisen.

Es könnte somit wohl angenommen werden, daß die Hefe an die Stelle des Fleisches bei der Nährbodenbereitung treten könnte, wenn nicht der höhere Gehalt an Kohlehydraten das Bakterienwachstum störend beeinträchtigte. Dieses ist aber von vornherein nicht anzunehmen, da nach Mitteilungen Kruses (46) in Anlehnung an Nägeli und Czapeck in der Stufenleiter für die Nährfähigkeit der organischen Stoffe gerade die Vereinigung von Eiweiß mit Zucker, also mit Kohlehydraten, für überaus günstig gehalten wird. Hierüber dürften aber erst praktische Wachstumprüfungen auf Hefenährboden Klarheit schaffen.

Weiter mußten diese Versuche darüber Aufschluß geben, ob die Verwendung von Hefepräparaten in gleicher Weise wie die Fleischbouillon noch einen Zusatz von Pepton erforderten, um ein günstiges Bakteriumwachstum zu erzielen. Da dieses aber außerdem immer von der Beschaffenheit des Fleisches und des Peptons abhängig ist, so war es interessant festzustellen, ob die Verhältnisse bei der Hefe ebenso lagen. Denn es ist doch eine nicht allzu selten gemachte Beobachtung, daß frisch bereitete Fleischbouillon häufiger als untauglich beiseite gestellt werden muß, weil sie zur Züchtung vor allem empfindlicher Bakterien trotz richtig gewählten Alkaleszenzgrades nicht zu verwenden ist, eine Erfahrung, die sowohl auf die verschiedene Beschaffenheit des Fleisches wie des Peptons zurückzuführen ist. Da wir nun aber in der Hefe ein ziemlich konstantes Präparat besitzen, das wie z. B. die Bierhefe stets in der gleichen Weise in den Brauereien weiter fortgezüchtet wird und jederzeit in größeren Mengen zur Verfügung steht, so dürfte wohl anzunehmen sein, daß bei der Hefenährlösunggewinnung nicht solch variable Verhältnisse vorherrschen als bei der Fleischbouillonbereitung, die doch immerhin an die verschiedene Beschaffenheit der nur in begrenzten Mengen zur Verfügung stehenden Fleischportionen gebunden ist.

Hefenährböden sind bereits von M. W. Beyerinck (47) zur Herstellung von Hefewasserglukosegelatine verwandt worden, indem ca. 50—100 gr Presshefe einem Liter Wasser zugesetzt, längere Zeit aufgekocht und durch Faltenfilter filtriert wurden.

Weiter hat Schönfeld (48) nach den Berichten Lindners einen Hefenährboden für die Züchtung von Pediokokken verwandt, indem er zur Herstellung derselben 5 g getrocknete Hefe in 100 g Wasser digerierte. Ebenso hat zu dem gleichen Zweck H. Will (49) einen Hefenährboden empfohlen, der aus 100 g trockner gepreßter Hefe durch $^1/_2$stündiges Kochen mit 500 ccm Wasser bereitet wurde.

Von dem Bestreben ausgehend, einen Nährstoff dem Agar beizufügen, der mit dem Eiweißgehalt des Peptons den dem Fleischwasser eigenen Reichtum an Nährsalzen verbindet und zudem möglichst billig ist, haben dann als erste Fischer, Bitter und Wagner (50) den Gebrauch von Hefepräparaten zur Nährbodenbereitung speziell für die Herstellung größerer Mengen Choleraimpfstoffes empfohlen.

Hierzu wurden 50 g Nährhefe (vom Institut für Gährungsgewerbe) 5 g Kochsalz, 15 g Agar in 1000 ccm Leitungswasser im Autoklaven bei $^1/_2$ Atmosphäre Überdruck flüssig gemacht, das Gemisch mit Normalnatronlauge neutralisiert und zum Schluß noch 1,6 ccm Normalsalzsäure zugegeben. Die nach genügender Sterilisierung und gutem Durchmischen gegossenen Agarplatten sind milchig getrübt, von grauweißer Farbe, ähnlich wie Serumplatten und eignen sich nach Ansicht der drei Autoren zwar gut zur Züchtung von Cholerakulturen zwecks Impfstoffgewinnung, sind aber wegen ihrer Undurchsichtigkeit für die allgemeine bakteriologische Praxis nicht verwendbar. Dieselben günstigen Ergebnisse konnten mit Preßhefe erzielt werden, dagegen soll Bierhefe wegen der in ihr enthaltenen Bitterstoffe nicht zu empfehlen sein.

Im Gegensatz zu den Kieler Erfahrungen hat nun Guggenheimer (51) gerade bei Verwendung von untergäriger Bierhefe günstige Ergebnisse bei der Nährbodenbereitung erzielen können, indem er 2,5 kg gutgewaschene Bierhefe in 4 l Leitungswasser unter häufigem Umrühren zu einmaligem kurzem Aufkochen brachte und dann

5 l kaltes Leitungswasser zusetzte. Die Hefe setzte sich dann gut ab und der überstehenden nach 3 Stunden abfiltrierten Flüssigkeit wurden noch 1 % Pepton und 0,5 % Chlornatrium zugegeben. Guggenheimer empfiehlt diese Methode hauptsächlich zur Impfstoffgewinnung und auch zur Bereitung gewisser Spezialnährböden. Ob sie aber für die bakteriologische Allgemeinpraxis in Frage kommt, ist bisher noch nicht ausreichend ausprobiert worden, zudem wird bei dieser Nährbodenbereitung wegen des hierzu erforderlichen Peptonzusatzes wieder auf animalische Eiweißpräparate zurückgegriffen.

Auf diesen Peptonzusatz verzichten nun mehrere Hefenährbödenverfahren, die erst in jüngster Zeit angegeben sind und nach den Angaben der Autoren auch für den Gebrauch in der allgemeinen Bakteriologie durchaus geeignet sein sollen und somit einen vollwertigen Ersatz für die Fleischbouillon bieten könnten.

Insbesondere will Gassner (4) die Verwendung der Hefe auf das Gesamtgebiet der bakteriologischen Technik ausgedehnt wissen. Zudem dürften seine Veröffentlichungen umsomehr Beachtung beanspruchen, als es nach seinen Angaben möglich sein soll, die Verwendung von Fleisch und daraus hergestellten Zusätzen wie Pepton, Nutrose usw. völlig auszuschalten, was bei den bis dahin verwandten Hefepräparaten nicht möglich gewesen war.

In einer unlängst erschienenen Arbeit konnte H. Reiter (52) auf Grund eigener Nachprüfungen die Angaben Gassners bestätigen, er gibt am Schluß seiner Abhandlung der Erwartung Ausdruck, daß die Hefebrühe endgültig die Fleischbrühe in ihrer Verwendung zur Nährbödenherstellung verdrängen wird.

Dasselbe sollte nun auch mit einem von Dr. Otto Kamman (53) im hygienischen Institut der freien Hansastadt Hamburg ausgearbeiteten und am 9. April 1916 patentierten Hefenährbodenverfahren möglich sein.

Veranlaßt durch die große Bedeutung, die unter den jetzigen Zeitumständen einem billigen und vollwertigen Ersatz für die Fleischbrühe bei der Nährbodenbereitung zukommt, habe ich während längerer Zeit in der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes ausgedehnte Untersuchungen über die Verwertbarkeit der Hefe zur Nährbodenbereitung ausgeführt, die dann schließlich zur Ausarbeitung eines neuen Verfahrens führten.

I. Versuche mit den Hamburger Hefenährböden.

Zunächst habe ich mich mit dem von dem Hamburger Institute angegebenen Verfahren beschäftigt. Es sollte die Herstellung von Pepton und Pepton + Extraktivstoffen aus Hefe in Trockenform zur Verwendung für bakteriologische Nährböden und Nährflüssigkeiten ermöglichen und dabei einen vollwertigen Ersatz für die bislang gebräuchlichen Fleischpeptone und Fleischextrakte bieten.

„Zur Herstellung von Hefepepton werden 10 kg Hefe (Branntwein-, Getreide-, Preß-Hefe) mit ca. 20 l Wasser 2 Stunden im Autoclaven bei $1^1/_2$—2 Atmosphären Überdruck behandelt und nach dem Erkalten die die Extractivstoffe enthaltende Lösung abgehebert resp. abfiltriert und zurückgestellt. Die dickflüssige weißliche Hefemasse wird je nach dem Eiweißgehalt der Hefe mit soviel einer gut wirkenden 0,5 %

Salzsäure enthaltenden Pepsinlösung versetzt, daß die völlige Peptonisierung der Hefeeiweißstoffe gesichert ist. Die gesamte zugesetzte Flüssigkeit soll etwa 10 l betragen. Bei öfterem Umschütteln wird die Hefe mit der salzsäurehaltigen Pepsinlösung 4 bis 5 Tage bei 37° im Thermostaten gehalten. Nach dieser Zeit ist das gesamte abbaufähige Hefeeiweiß peptonisiert und die überstehende braune Flüssigkeit enthält in gelöster Peptonform alle abbaufähigen Hefeeiweißstoffe. Die Lösung wird abgehebert oder abfiltriert, mit Natronlauge neutralisiert und bei Temperaturen nicht über 50° im Luftstrom oder im Vakuum zur Trockne gebracht. Das Trockengut wird zur Entfernung der letzten Spuren Feuchtigkeit 1 Stunde bei 100—105° erwärmt und hierauf in der Kugelmühle staubfein gemahlen. Es stellt ein gelblich weißes im Wasser leicht lösliches Pulver dar, das alle Peptonreaktionen gibt und gebrauchsfertig ist.

Sollen Extraktnährböden hergestellt werden, wird wie folgt verfahren: 10 kg Hefe werden wie oben mit ca. 20 l Wasser 2 Stunden im Autoklaven bei $1^1/_2$—2 Atmosphären Überdruck behandelt und nach dem Erkalten die die Extraktivstoffe enthaltende Lösung abgehebert resp. klar filtriert und zurückgestellt. Dann wird die zurückbleibende Hefemasse genau wie oben zur Darstellung des Peptons benutzt. Nach 4—5tägigem Verweilen im Thermostaten bei 37° wird abgehebert oder abfiltriert, mit Natronlauge neutralisiert und diese die Peptone enthaltende Lösung mit der die Extraktivstoffe enthaltenden Lösung vereinigt und im Luftstrom bei Temperaturen bis zu 50° oder im Vakuum zur Trockne gebracht. Das Trockengut wird in der Kugelmühle gemahlen nach vorheriger einstündiger Trocknung bei 100—105° und stellt ein rötlich-gelbliches feines Pulver dar von angenehm aromatischem Geruch. Es ist in dieser Form für jeden Extraktnährboden oder jede Extraktnährlösung geeignet."

Die Nährbodenherstellung selbst erfolgt folgendermaßen:

1. Peptonlösung: In einem Liter Wasser werden 10 g Hefepepton, 8 g Kochsalz, 0,1 g Kaliumnitrat und 0,2 g kristallisiertes kohlensaures Natron in der Wärme gelöst, die Lösung wird filtriert, in Kölbchen abgefüllt und an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Stunde im Dampftopf sterilisiert.

2. Extraktagar: Einem Liter Wasser werden 6 g Hefepepton + Extraktivstoffe (Pulver), 3 g Kochsalz und 22 g Agar zugesetzt. Man läßt das Ganze mindestens $^1/_2$ Stunde im Dampftopf kochen. Darauf erfolgt durch 10%ige Sodalösung die Einstellung auf einen Alkalescenzgrad von 0,05—0,07%. Dann wird der Agar für einige Stunden in den Dampftopf zurückgebracht und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen, um die Klärung durch Absetzen eines Bodensatzes herbeizuführen. Der Bodensatz wird abgeschnitten, der klare Agar in Kolben verteilt und diese $1^1/_2$ Stunden lang an 2 aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf sterilisiert.

Wie ich mich durch eigene Versuche überzeugen konnte, war die von dem Hamburger hygienischen Institut angegebene Hefepeptonbereitung aus Branntwein-Getreide-Preßhefe zwar ziemlich zeitraubend aber doch leicht ausführbar. Die schließlich aus der Hefe enthaltenen Extrakte und Verdauungsprodukte gaben die üblichen Peptonreaktionen (Löslichkeit in Wasser, Unlöslichkeit in absolutem Alkohol, Xanthoprotein- und Biuretreaktion).

Für die ersten Versuche stand mir eine in Hamburg hergestellte Peptonlösung zur Verfügung, die zehnmal so stark war als für bakteriologische Nährböden erforderlich, sowie ein Hefepepton und Extraktivstoffe enthaltender Extrakt, der 10 g pro Liter für alle in Betracht kommenden Nährböden ausreichend sein sollte.

a) Versuche mit Hefepepton.

Zur Nährbodenbereitung wurden nun zu 100 g der Hamburger Lösung, welche wie erwähnt, 10 mal zu stark war, 900 ccm Wasser zugesetzt, sodann in der Wärme 8 g Kochsalz, 0,1 g Kaliumnitrat und 0,2 kristallisiertes kohlensaures Natron. Die Mischung wurde filtriert und an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Stunde im Dampftopf sterilisiert. Diese Hefepeptonlösung sollte die fertige Nährflüssigkeit anstelle von Fleischbouillon darstellen und zur Herstellung aller Nährböden verwendet werden können.

Die nach der Richtung angesetzten Versuchsreihen, ob die Hefepeptonflüssigkeit dasselbe leistete wie die gewöhnliche Nährbouillon, ergaben, daß alle zur Prüfung herangezogenen Bakterien wie Cholera, Typhus, Paratyphus A- und B, Gärtner, die 3 Ruhrstämme, Koli, Proteus, Faec. alcalig., Streptoc., Staphyloc. und die Farbstoffbildner wie Pyocyaneus, Prodigiosus, Kiliense usw. ein ebenso typisches, morphologisch ganz einwandfreies und üppiges Wachstum zeigten wie in der gewöhnlichen Fleischbrühe. — Auch die Verwendung als Peptonwasser zur Anreicherung der Choleravibrionen war völlig ausreichend, sie zeigten darin das typische Oberflächenwachstum neben befriedigender Anreicherung und bei fast allen verwendeten Cholerakulturen Indolbildung, die sich durch die Choleraroreaktion feststellen ließ. — In Übereinstimmung damit fiel auch die chemische Prüfung entsprechend aus, indem nämlich die üblichen Peptonreaktionen einwandsfrei positiv waren.

Ein fast ebenso befriedigendes Ergebnis ließ sich bei der Heranziehung der Hefepeptonlösung bei den Agarnährböden erzielen, wenn 22 g Agar einem Liter zugesetzt wurden.

Das Wachstum auf den mit kleinen abgestuften Kulturmengen beimpften Hefeagarplatten war durchaus günstig, erst in den kleinsten Verdünnungen von $^1/_{1000}$ aufwärts wurde ein geringes Zurückbleiben hinter den gleichzeitig angelegten gewöhnlichen Agarnährböden bemerkbar, selbst der Kruse-Shiga-Ruhr-Bacillus, der auf den später besprochenen Extraktnährböden viel schlechter wuchs, kam in befriedigender Weise zum Auskeimen. Die Prüfung auf agglutininbildende und -bindende Eigenschaften der auf Hefepeptonagar gewachsenen Bakterienkulturen ließ kein Zurückbleiben gegenüber den auf den gewöhnlichen Nährböden gewachsenen Kulturen erkennen. Mit den zugehörigen Immunseren ergaben sie Ausschläge bis zum Endtiter und die von Kaninchen durch Immunisierung gewonnenen Seren ergaben nach gleichmäßiger Behandlung dieselben hohen Agglutinationswerte, sodaß das Ergebnis der Immunisierungsversuche als durchaus befriedigend angesprochen werden muß.

Weiter wurde die Hefepeptonlösung noch zur Bereitung der Elektivnährböden herangezogen. Die damit hergestellten Drigalski-Lackmus-Platten hatten die typische blauviolette Farbe bei guter Durchsichtigkeit und ergaben nach Beimpfung mit den

Bakterien der Typhus-Koli- und Ruhrgruppe bei guten Wachtumsergebnissen den gewünschten Farbenumschlag.

Die Endo-Fuchsinagarplatten brachten gleichfalls den erhofften Farbenumschlag, jedoch machte sich hierbei häufig eine leichte rötliche Verfärbung der gesamten Platte bemerkbar, wodurch die Übersichtlichkeit beeinträchtigt wurde. — Längeres Aufbewahren war leider nicht möglich, da bald eine Rötung der ganzen Agarmasse erfolgte und diese infolgedessen unbrauchbar wurde. Es ist deshalb erforderlich, diese Fuchsinagarlösungen jedesmal frisch herzustellen, was jedoch in größeren Betrieben auf Schwierigkeiten stoßen dürfte.

Von besonderer Wichtigkeit war es bei meinen Untersuchungen, die größtenteils noch während des Krieges ausgeführt wurden, festzustellen, ob der Hefeagarnährboden auch zur Impfstoffbereitung herangezogen werden könnte, wie dies bereits in Kiel bei der Choleraimpfstoffbereitung und in München bei der militärärztlichen Akademie nach den Mitteilungen Guggenheimers bei beiden Vaccins sowohl gegen Typhus wie Cholera schon seit längerer Zeit geschieht.

Es war zunächst zu entscheiden, ob auf den Hamburger Hefepepton-Nährböden ein ebenso reichliches oder besseres Kulturwachstum zu erzielen war als auf dem bisher üblichen Fleischwasserpeptonagar, weiter ob die Abschwemmungen denselben Keimgehalt und dieselbe Dichtigkeit aufzuweisen hatten.

Die Versuchstechnik war dabei folgendermaßen: Es wurden von beiden Agarnährböden gleich große Platten in Drigalskischalen von etwa 18 cm Durchmesser gegossen und dazu dieselbe Menge (100 ccm Flüssigkeit) verwandt, sodaß dadurch dieselbe Agarschichthöhe bei allen Nährböden gewährleistet war. Zudem wurde noch darauf geachtet, daß die Agarplatten nicht zu feucht waren, was bei der feuchten Wägung zur Bestimmung des Kulturgewichtes leicht zu Fehlern hätte Anlaß geben können. Sodann wurde die Beimpfung in der Weise vorgenommen, daß eine Öse einer 24 stündigen Kultur in 10 ccm Bouillon verrieben und von dieser Aufschwemmung 0,5 ccm auf die Agarplatte gebracht und mit einem Drigalskispatel sorgfältig verrieben wurde. Nach 20 stündigem Brutschrankaufenthalt wurde der ganze Kulturrasen mit einem Spatel abgeschabt, in ein steriles Uhrschälchen gebracht und auf einer analystischen Wage abgewogen. Die gesamte Kulturmenge wurde darauf in 100 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und bei 56° abgetötet, sodann in der Thoma-Zeißschen Zählkammer der Keimgehalt in 1 ccm Flüssigkeit bestimmt und zum Schluß noch die Dichtigkeit durch vergleichende Beobachtung mit einer vorher hergestellten Standardlösung festgestellt.

Es wurden zu diesem Zwecke der Kulturrasen einer großen Fleischwasseragarplatte mit 100 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und davon 5 ccm in ein Reagenzglas gebracht. Von den zu prüfenden Kulturabschwemmungen wurden ebenfalls je 5 ccm in Reagenzgläser von gleicher, lichter Weite eingefüllt und nun bei durchfallendem Lichte die größere Dichte bestimmt. Durch Zusatz von Kochsalzlösung ließ sich in allen Gläschen mit größerer Dichtigkeit dann dieselbe Dichte wie in der Standardlösung herstellen und aus der zugesetzten Menge physiologischer Kochsalzlösung die Transparenzzahl bestimmen. Waren z. B. bei einem Röhrchen 3 ccm Kochsalz-

lösung nötig, um dieselbe Dichtigkeit wie in den Kontrollröhrchen herbeizuführen, so wurde die Transparenzzahl durch die folgende Formel bestimmt:

$$x = \frac{100 \cdot 8,0}{5,0} = 160,0\,\%.$$

Zeigte nun ein Röhrchen eine geringere Dichte wie die Standardlösung, so wurde diese entsprechend mit Kochsalzlösung verdünnt und sodann aus der Standardverdünnung die Transparenzzahl bestimmt. Waren z. B. 2,5 ccm Kochsalzlösung erforderlich, so ergab sich die Formel:

$$x = \frac{100 \cdot 5,0}{7,5} = 66,7\,\%.$$

Diese Methode hat sich mir in zahlreichen vergleichenden Versuchen durchaus bewährt und ist, ohne einen Anspruch auf absolute Genauigkeit zu machen, jedenfalls geeignet, um einigermaßen die verschiedenen Impfstoffdichtigkeiten untereinander abschätzen zu lassen.

Die Versuche sind mit verschiedenen Typhus- und Cholerastämmen ausgeführt und die Ergebnisse in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Versuche mit Hamburger Hefewasseragar.

Bakterienart	Abschwemmungsmenge ccm	Gewöhnlicher Agar			Hamburger Hefewasseragar		
		Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimzahl in 1 ccm Mill.	Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimzahl in 1 ccm Mill.
Typhus I	100	0,360	100	760	0,340	77	600
„ II	100	0,400	123	920	0,360	96	800
„ III	100	0,475	112	720	0,425	75	440
„ IV	100	0,470	130	720	0,550	80	550
Typhus V	100	0,250	110	560	0,250	90	1200
„ VI	100	0,200	100	540	0,450	130	820
„ R	100	0,400	115	860	0,350	95	790
„ 682	100	0,200	95	720	0,250	85	540
Cholera X	100	0,780	115	1840	0,450	52	1200
„ Krakau	100	0,620	100	1400	0,460	46,5	1480
„ Baku	100	0,700	121	1840	0,260	34,4	560
„ R.	100	0,680	115	1200	0,700	62	1000
Cholera Brühe	100	0,580	117	2040	0,355	92	1400
„ virul.	100	0,535	100	1890	0,560	114	1060
„ Breger	100	0,505	117	1000	0,440	122	880
„ Ausland	100	0,520	121	1500	0,325	87	1340

Wie daraus hervorgeht, sind die Werte der Kulturgewichte, Keimzahlen und Transparenz der von den Hefepeptonagarplatten erhaltenen Kulturabschwemmungen durchwegs etwas geringer als bei Anwendung der bisher gebräuchlichen Fleischwasserpeptonnährböden.

Fast dieselben Ergebnisse wurden bei weiteren vergleichenden Versuchen erzielt, denen die Vorschriften für die Herstellung der gebräuchlichen Typhus- und Cholera-impfstoffe zugrunde gelegt waren.

Es sollte auf diese Weise entschieden werden, ob es auch mit diesen Hefenährboden gelingen würde, quantitativ dasselbe zu leisten wie mit den alten bisher üblichen. Ein im Reichsgesundheitsamte hergestellter Cholera- und Typhusimpfstoff mit der vorgeschriebenen Dichte und Keimzahl diente dabei als Standard. Hiernach wurden beide Impfstoffreihen eingestellt, die somit die gewünschte Transparenz von 100% erhielten. Die erhaltenen Impfstoffmengen sind in Tabelle 2 aufgeführt, in der auch gleichzeitig noch das Ergebnis der feuchten Wägung der gewachsenen Kulturrasen und der Keimgehalt in 1 ccm Flüssigkeit aufgeführt sind.

Tabelle 2.

Impfstoffbereitung mit Hamburger Hefewasseragar.

Impfstoff Nr.	Impfstoff, hergestellt aus folgenden Bakterienarten	Gewöhnlicher Agarnährboden			Hamburger Hefewasser-Agarnährboden		
		Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimgehalt in 1 ccm Mill.	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimgehalt in 1 ccm Mill.
1	Cholera X „ Krakau „ Baku „ R.	860	2,780	842	400	1,870	1060
2	Cholera Brühe „ virul. „ Breger „ Ausland	600	2,140	1072	602	1,680	1170
Gesamtmenge des Choleraimpfstoffes		1460			1002		
3	Typhus V „ VI „ R „ 682	1720	1,050	170	1620	1,300	190
4	Typhus I „ II „ III „ IV	1640	1,705	202	1100	1,675	205
5	Typhus I „ II „ III „ IV „ V „ VI	3900	—	160	2400	—	145
Gesamtmenge des Typhusimpfstoffes		7260			5120		

Auch hier wieder bei der Impfstoffbereitung auf Hefeagarplatten nur ein geringes Zurückbleiben der Kulturgewichte und Keimzahlen und im ganzen naturgemäß kleinere Impfstoffmengen. Die Unterschiede gegenüber den mit Fleischwasserpeptonnährböden erhaltenen Resultate waren nur unerheblich, so daß zur Impfstoffbereitung bei Fehlen der erforderlichen Fleischmengen diese durch Hefepepton ersetzt werden können.

b) Versuche mit Hefepepton + Extraktivstoffe.

Weniger günstig waren die Ergebnisse, die ich mit den Extraktnährböden zu verzeichnen hatte. Zu ihrer Herstellung wurden 10 g der dickflüssigen, in Hamburg hergestellten Extraktmasse mit 3 g Kochsalz 1 Liter Wasser zugesetzt und in der vorgeschriebenen Weise weiterbehandelt und alkalisiert.

Schon bei der Beimpfung, die zunächst mit spärlichen aber gleichen Bakterienmengen vorgenommen wurde, zeigten vor allem die Typhus-, Cholera- und Kruse-Shigabacillen auf den Kontrollplatten von gewöhnlichem Fleischwasseragar ein ausgesprochen besseres Wachstum, indem auf diesem Agar zweimal, in einzelnen Versuchsreihen selbst dreimal soviel Kolonien zur Entwicklung kamen als auf den Hefeextraktnährböden. Diese Wachstumsunterschiede machten sich hauptsächlich auf den Platten bemerkbar, die nur mit $^1/_{500}$ und $^1/_{1000}$ Öse Kultur beschickt wurden. Während auf den gewöhnlichen Fleischwassernährböden selbst bei dieser geringen Keimaussat noch eine üppige Keimentwicklung festzustellen war, konnte auf den Hefeplatten gerade bei den Cholera- und noch mehr bei den Kruse Shiga-Ruhrbeimpfungen ein auffallend schlechteres Wachstum beobachtet werden, das bei den Ruhrkeimen manchmal absolut negativ ausfiel.

Auf das morphologische, serologische, immunisatorische und sonstige kulturelle Verhalten der Bakterien hatte die Züchtung auf Hefenährböden keinen Einfluß.

Diese Ergebnisse konnten in mehreren Versuchsreihen mit verschiedenen Extraktproben regelmäßig erhoben werden.

Etwas günstiger dagegen waren die Versuchsergebnisse, die mit von mir selbst frisch bereiteten Hefeextrakten angestellt waren.

Auch bei den Versuchen, den Extrakt zur Bereitung von Elektivnährböden heranzuziehen, konnten keine günstigen Resultate erzielt werden. Bei den Endofuchsinplatten machte sich ein diesen Hefenährböden eigentümlicher dunklerer brauner Farbton störend bemerkbar, der die Übersichtlichkeit sehr störte. Der Farbenumschlag bei den Colibacillen war typisch, dagegen konnte bei den Typhus- und Paratyphusbacillen neben dem typischen glasigen durchsichtigen Kolonienwachstum eine rötliche Verfärbung der ganzen Agarplatte beobachtet werden. Überhaupt nahm der Endohefeextraktagar sehr bald einen rötlichen Farbton an, so daß er jedesmal frisch bereitet werden mußte und schon nach relativ kurzer Zeit nicht mehr brauchbar war. — Die Drigalski-Hefeextraktplatten hatten in frischem Zustande das typische Aussehen. Das Wachstum der Koli- und Ruhrbacillen war wie auf dem gewöhnlichen Fleischwasser-Lackmusagar, dagegen kamen die Typhus- und Paratyphuskeime erst nach 48 Stunden zu üppigerem Auskeimen, was natürlich bei der differentialdiagnostischen Verwendung überaus störend und hinderlich wirken muß. Ebenso wie

der Fuchsinhefeagar wurde auch der mit Lackmus bereitete schon nach kurzer Zeit unbrauchbar, indem er recht häufig eine bräunliche Verfärbung annahm.

Die in der gleichen Weise wie bei den Hefepeptonnährböden angestellten Wachstumsprüfungen zur Impfstoffbereitung haben unter denselben Versuchsbedingungen nur wenig befriedigen können. Vor allem muß, wie aus den Tabellen 3 und 4 hervorgeht, darauf hingewiesen werden, daß die mit verschiedenen Extraktproben erzielten Resultate nicht gleichmäßig waren, indem nämlich die zuerst geprüften fast zu denselben Kulturergebnissen führten, während später hergestellte Extrakte vor allem bei den Cholerakulturen völlig versagten.

Tabelle 3.
Versuche mit Hamburger Hefeextraktagar.

Bakterienart	Abschwemmungsmenge ccm	Gewöhnlicher Agar			Hamburger Hefeagar		
		Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimzahl in 1 ccm Mill.	Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimzahl in 1 ccm Mill.
Typhus Renken . . .	100	0,380	127	660	0,480	113	712
„ Sammlung . .	100	0,380	100	684	0,300	12,5	240
„ I	100	0,225	150	432	0,225	110	406
„ II	100	0,295	71,5	444	0,205	125	458
„ III	100	0,330	100	700	0,230	100	410
Typhus I	100	0,535	97	429	0,384	110	284
„ II	100	0,659	95	354	0,350	90	257
„ III	100	0,640	110	332	0,486	100	372
„ IV	100	0,667	100	274	0,628	100	441
Cholera Fast.	100	0,670	100	2040	0,600	32,3	960
„ X	100	0,535	84	2032	0,400	58,8	1088
„ Riedler . . .	100	0,730	140	4680	0,500	84	2450
Cholera Baku	50	0,600	300	4120	0,350	150	2140
„ Riedler . . .	50	0,350	165	1820	0,255	136	1620
„ X	50	0,300	100	2000	0,450	175	2250
Cholera Baku	100	0,545	110	2000	0,0	0	0
„ Riedler . . .	100	0,365	102	1885	0,0	0	0
„ X	100	0,405	100	2110	0,0	0	0
„ Krakau . . .	100	0,877	175	2860	0,0	0	0

Es lag nun der Gedanke nahe, diese Hefeextrakte auch anstelle von Liebigs Fleischextrakt zur Bereitung von Nährgelatine für Keimzählungen im Wasser heranzuziehen. Die Nährböden wurden genau entsprechend den amtlichen Vorschriften hergestellt und zur Kontrolle eine Nährgelatine verwandt, die mir von der Landesanstalt für Wasserhygiene in Berlin-Dahlem überlassen war. Versuche mit verschiedenen Wasserkeimen (Koli, Prodigiosus und Violaceus) und Wasserproben ließen auf den Hefegelatineplatten gelegentlich ein Zurückbleiben der Keimzahlen gegenüber den Kontrollen erkennen, was sich besonders unangenehm bei den Wasserproben mit geringem Keimgehalt bemerkbar machte. Während dann auf den Kontrollplatten

Tabelle 4.

Impfstoffherstellung auf Hamburger Hefeextraktagar.

Bakterienart	Gewöhnlicher Agar			Hamburger Hefeextraktagar		
	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimzahl in 1 ccm Mill.	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimzahl in 1 ccm Mill.
Cholera Baku, „ Krakau, „ Riedler, „ X	275	1,750	1924,2	230	1,655	1741,7 1. Probe
Cholera Baku, „ Krakau, „ Riedler, „ X	270	2,270	2844	300	2,650	1816 2. Probe
Gesamt-Cholera-Impfstoffmenge	545			530		
Typhus I, „ II, „ III, „ IV, „ V, „ VI	1155	1,500	176,5	1100	1,320	119,9 1. Probe
Typhus I, „ II, „ III, „ IV, „ V, „ VI	1320	1,900	278,8	660	0,855	198 2. Probe
Gesamt-Typhus-Impfstoffmenge	2475			1770		
Cholera R, „ Baku, „ X, „ Krakau	350	2,292	2360	—	—	— 3. Probe

noch positive Ergebnisse notiert werden konnten, lieferten die Hefegelatineplatten hierauf wieder absolut negative Untersuchungsresultate.

Dieselben nicht sehr befriedigenden Ergebnisse wurden ebenso mit einer Hefeextraktgelatine erhalten, die gerade zu diesem Zweck vor einiger Zeit aus dem Jenenser hygienischen Institut von A. Kressler (54) empfohlen worden ist.

Da zur Herstellung dieser Hefenährböden gleichfalls ein Branntweinhefeextrakt (Hefekraftextrakt von der Firma Apotheker Stock in Bernstadt, Schlesien) Verwendung findet und diese Extraktnährböden auch in der allgemein bakteriologischen Technik brauchbar sein sollen, so habe ich dieses Verfahren ebenfalls ausprobiert.

Die Wachstumsprüfungen waren zwar ganz zufriedenstellend, nur konnte vor allem bei den Typhus-, Cholera- und Kruse-Shiga-Ruhrbacillen ein erheblich geringeres Auskeimen der einzelnen Kolonien beobachtet werden, ein Nachteil, der bei den bisher besprochenen Hefenährböden nicht zu Tage trat. Dementsprechend war auch das Wachstum auf den Elektivnährböden, wenn auch der Farbenumschlag auf den Endo- und Drigalski-Hefeplatten bei den in Frage kommenden Keimen durchaus typisch und kontrastreich erfolgte.

Zur Impfstoffbereitung eignete sich dieser Nährboden ebensowenig, da sowohl auf den mit Cholera- wie mit Typhusbacillen beimpften Platten ein erhebliches Zurückbleiben hinter dem Wachstum auf den Fleischwasserpeptonagarplatten festzustellen war. Kulturgewicht, Transparenz und Keimzahlen waren bei den Abschwemmungen der Hefeextraktplatten kleiner und infolgedessen die erhaltenen Impfstoffmengen auch naturgemäß geringer.

Tabelle 5.

Versuche mit Jenenser Hefeextraktagar.

Bakterienart	Ausgangskultur				
	$^1/_{100}$ Öse	$^1/_{1000}$ Öse	$^1/_{10\,000}$ Öse	$^1/_{100\,000}$ Öse	$^1/_{1\,000\,000}$ Öse
Gewöhnlicher Agar					
Typhus I	∞	1 490	506	294	176
Typhus II	∞	1 855	733	456	—
Cholera I	ca. 5 000	1 922	746	71	17
Cholera II	ca. 5 000	836	386	118	37
Shiga I	∞	ca. 10 000	ca. 8000	1 993	981
Shiga II	∞	ca. 6 000	340	224	86
Y I	∞	∞	∞	ca. 10 000	ca. 5000
Y II	∞	ca. 4 000	306	286	245
Flexner I	∞	∞	∞	ca. 7 000	ca. 4000
Flexner II	∞	3 500	302	9	—
Koli 21	ca. 8 000	1 203	306	224	281
Jenaer Hefeextraktagar					
Typhus I	ca. 5 000	ca. 750	355	249	85
Typhus II	∞	1 923	689	350	—
Cholera I	1 166	99	2	4	0
Cholera II	3 832	663	287	83	16
Shiga I	ca. 10 000	ca. 2 000	789	250	102
Shiga II	∞	ca. 3 000	ca. 6000 ganz kleine Kolonien	230	73
Y I	∞	∞	∞	ca. 8 000	ca. 3000
Y II	∞	ca. 3 000	249	302	239
Flexner I	∞	∞	∞	ca. 4 000	ca. 1000
Flexner II	ca. 2 000	358	17	17	5
Koli 21	ca. 8 000	1 106	287	328	186

Ein Ersatz der Fleischbrühe durch diesen Hefekraftextrakt dürfte deshalb nur im Notfalle zu empfehlen sein, zumal im Gegensatz zu den anderen hierzu empfohlenen Präparaten, bei dieser Nährbodenbereitung auf den Zusatz von Pepton nicht verzichtet wird.

Die Versuche mit den Extraktnährböden haben somit zu weniger günstigen Ergebnissen geführt und dürften sie deshalb in der allgemeinen bakteriologischen Praxis und bei der Impfstoffbereitung weniger in Frage kommen als die vorher besprochenen Hefepeptone.

II. Versuche mit dem Gaßnerschen Hefewasser.

Erheblich befriedigendere Erfahrungen habe ich sowohl bei der Wachstumsprüfung wie bei der Impfstoffbereitung mit dem von Gaßner angegebenen Verfahren gemacht, der als Ausgangsmaterial die sogenannte Breihefe, d. h. den Hefebodensatz der Gärbottiche der Brauereien benutzt.

„10 l dieser Hefe werden in einem etwa dreimal so großen Behälter dadurch gut ausgewaschen, daß man Wasser zugibt, umrührt, $^1/_2$ Stunde abstehen läßt und das über dem Hefesatz stehende Wasser abschüttet. Der Waschprozeß wird so oft wiederholt bis das abgeschüttete Wasser nicht mehr braun, sondern hell trübe ist; ein fünfmaliger Wasserwechsel ist meist ausreichend. Nach dem letzten Waschen wird die Hefe auf 18 l aufgefüllt, sodann im Autoklaven oder Dampftopf aufgekocht. Nach Absetzen der Hefe hebert man die überstehende Flüssigkeit ab oder filtriert durch Filtrierpapier." Die so erhaltene hellbräunliche Hefeflüssigkeit wird in derselben Weise verwendet wie die Fleischbrühe und soll zudem noch den Zusatz von Pepton oder Nutrose entbehrlich machen.

Die Verwendbarkeit der Breihefenährböden in der allgemeinen Bakteriologie soll nach den Untersuchungen Gaßners vor allem darauf beruhen, daß die untergärige Bierhefe im Gegensatz zu den anderen Hefepräparaten Salze und N-haltige Verbindungen, vor allem Eiweißstoffe in geeigneter und ausreichender Menge enthält, dagegen sollen C-Verbindungen, wie Zuckerarten, mehrwertige Alkohole u. a. von vornherein darin nicht enthalten sein. Daduich soll die Brauchbarkeit des Gaßnerschen Hefewassers zur Bereitung der für die Typhus- und Ruhrdiagnose notwendigen Nährböden ermöglicht werden. Während bei den anderen Hefepräparaten wie Preßhefe, Dauerhefe und Nährhefe auf Grund seiner experimentellen Beobachtungen wahrscheinlich durch Vergärung glycerinartiger Stoffe die Farbenumschläge gestört werden und deshalb diese Arten zu differentialdiagnostischen bakteriologischen Arbeiten ungeeignet sind, sollen dagegen bei Anwendung der Bierhefe diese störenden Verbindungen nicht auftreten. Er hat dieses in einer Reihe von höchst wertvollen Versuchen nachweisen können.

Bei meinen Versuchen mit dem Gaßnerschen Verfahren stand mir zunächst untergärige Bierhefe (Hefebodensatz der Gärbottiche der Versuchsbrauerei Berlin, Seestraße) zur Verfügung und später noch eine aus der Brauerei Königstadt. Es sei vorweg erwähnt, daß Unterschiede in diesen beiden Hefen aus verschiedenen Produktionsstellen nicht beobachtet werden konnten.

Bei der Herstellung des Hefewassers wurde den Vorschriften Gaßners entsprechend verfahren, es stellten sich dabei aber sogleich Schwierigkeiten insofern ein, als nach der Wasserzugabe und dem Umrühren nicht schon nach einer halben Stunde die Hefe sich so absetzte, daß die überstehende Flüssigkeit hätte abgegossen werden können. Die aufgewirbelte Hefe hatte sich vielmehr nach dieser Zeit absolut nicht abgesetzt, sondern dazu waren viele Stunden erforderlich. Ich habe daher an 2 aufeinanderfolgenden Tagen am Morgen und am Abend frisches Wasser zugesetzt, bis endlich am 3. Tage das überstehende Wasser helltrübe abfloß. Ebenso ging das Absetzen der sterilisierten Hefebouillon wieder nicht so glatt vor sich, sondern die Flüssigkeit mußte filtriert werden, was nur ziemlich langsam vor sich ging. Die so erhaltene Hefeflüssigkeit war hellbräunlich, klar durchsichtig, von angenehmem würzigem Geruch und von schwach sauerer Reaktion.

Zunächst wurde nun die Verwendung der Hefeflüssigkeit als Nährbouillon ausprobiert, nachdem vorher pro l 5 g Kochsalz zugesetzt und die Lösung wie gewöhnlich schwach alkalisiert war. Nach Beimpfung mit den verschiedensten Bakterien der Typhus-Koli-Gruppe, der Ruhrkeime, der Choleravibrionen, Staphylokokken, Streptokokken usw. wurden ausgezeichnete Wachstumsergebnisse erzielt.

Ebenso günstig waren die Versuchsergebnisse bei den Hefeagarplatten. Diese sind klar, durchsichtig, und von guter fester Konsistenz. Die meisten Bakterien zeigten auf ihnen dieselben, hin und wieder auch bessere Wachstumsintensitäten wie auf den Kontrollplatten von gewöhnlichem Fleisch-Agar. Die einzelnen Kolonien waren durchaus typisch gewachsen und zeigten dieselben morphologischen Eigenschaften. Außerdem waren hinsichtlich der agglutininbildenden und -bindenden Fähigkeiten der auf Hefeagar- und gewöhnlichen Nährböden gewachsenen Kulturen keine Unterschiede festzustellen. Diesbezüglich angestellte Prüfungen ergaben bei den verschiedensten Stämmen mit den entsprechenden hochwertigen Immun-Seren beiderseits Ausschläge bis zu den Endtitern. Mit Typhus- und Cholerakulturen beiderlei Wachstums immunisierte Kaninchen, die 3 Injektionen von $^1/_2$, 1 und 2 Ösen (abgetötet) intravenös erhalten hatten, lieferten Seren, deren Endtiter zwischen den Verdünnungen 1:15000 und 1:25000 schwankten.

Gleichfalls befriedigend waren die Erfahrungen mit Gelatineröhrchen und -platten, die mit Hefewasser anstelle von Fleischbrühe oder Liebigs Fleischextrakt angelegt waren. Nach Beimpfung mit den verschiedensten Keimen, vor allem mit den hauptsächlichsten Wasserkeimen, Koli, Prodigiosus und Violazeus lieferten sie immer durchaus günstige Wachtumsergebnisse. Sie hatten aber den Nachteil, daß die Verflüssigung, wie sie z. B. durch Prodigiosus hervorgerufen wurde, manchmal bedeutend schneller vor sich ging wie auf den Kontrollnährböden, und dann auf den Platten vor allem bei Wasseruntersuchungen eine Farbenunterscheidung oder sachgemäße Keimauszählung nicht gut mehr möglich war.

Bei der Heranziehung dieser Hefebouillon zu Differenzialnährböden konnte ich feststellen, daß Hefewasser-Drigalski-Lackmusplatten die typische blau-violette Farbe aufwiesen und dabei klar und durchsichtig waren. Das Wachstum der Kulturen der Typhus-Koli und der Ruhrgruppe, von Gärtnerbacillen, Faecal. alkal., Proteus usw.

war überaus typisch und morphologisch einwandfrei. Dieselben Erfahrungen hat H. Reiter auch machen können. Dagegen waren bei Ausdehnung meiner Versuche auf Endonährböden die Beobachtungen weniger befriedigend. Gaßner selbst ist in seiner Arbeit auf die Verwertbarkeit des Hefewassers bei dieser Art Nährböden nicht eingegangen. Dagegen will H. Reiter auch hierbei gute Resultate erzielt haben. Während bei meinen Versuchen Kolibacillen tpyisch rot wuchsen, ließen Typhusbacillen hin und wieder auch rotgefärbte Kolonien neben blassen durchsichtigen erkennen, daneben hatte aber auch der übrige Teil der Platten einen roten Farbenumschlag aufzuweisen: dieselben Beobachtungen konnten auch bei Para-A, Para-B, Gärtner und den Ruhrkeimen wahrgenommen werden, außerdem war bei den Kruse-Shiga-Ruhrbacillen ein viel spärlicheres Wachstum als auf den gewöhnlichen Kontrollplatten festzustellen.

Ebenso wie bei den früher besprochenen Hefenährböden trat auch hier wieder nach mehrtägigem Stehen und häufigerer Sterilisation eine rote Verfärbung der gesamten Nährlösung ein, wodurch natürlich eine weitere Verwendung unmöglich wurde.

Wenig befriedigend waren gleichfalls die Ergebnisse bei Versuchen, bei der Choleradiagnose anstelle des Peptons (Witte) Hefewasser anzuwenden. Während nämlich die verschiedensten Cholerakulturen in der bisher üblichen Nährflüssigkeit typisches Wachstum am Spiegel der Flüssigkeit und deutliche Keimanreicherung aufwiesen, konnte dieses bei den Kölbchen mit Hefewasser nicht beobachtet werden. Bei Fehlen des Oberflächenwachstums und negativem Ausfall der Cholerarotreaktion ließen außerdem die mit einer Öse der Kölbchenflüssigkeit beeimpften Agarplatten ein deutlich spärlicheres Wachstum erkennen als die Agarplatten, die mit derselben Menge von Kontrollpeptonwasserkölbchen beschickt waren.

Zufriedenstellender waren dagegen die Beobachtungen, die bei der Heranziehung der Gaßnerschen Nährböden zur Impfstoffbereitung gemacht wurden. Zunächst wurde wieder, wie bei den früheren Versuchsreihen, das Wachstumsergebnis der mit gleichgroßen Kulturmengen von Typhus- und Cholerabacillen beimpften großen Drigalskiplatten verglichen. Die dabei erhaltenen Versuchsresultate sind in Tabelle 6 (S. 357) zusammengestellt.

Wie daraus hervorgeht, sind die Werte sowohl für Kulturgewicht und Keimzahl wie für die Transparenzzahl der auf den Gaßnerschen Hefeagarnährböden hergestellten Kulturabschwemmungen durchwegs höher als die gleichzeitig mit gewöhnlichem Fleischbrühenagar bereiteten, in gleicher Weise bei den Cholera- wie bei den Typhusbacillen.

Ebenso konnten bei der Bereitung der für die Typhus- und Cholera-Schutzimpfung vorschriftsmäßig hergestellten Impfstoffe mit den Gaßnerschen Agarplatten gute Ergebnisse erzielt werden.

Aus der Tabelle 7 (S. 358) ist zu ersehen, daß die Hefeimpfstoffe durchschnittlich höhere Kulturgewichte und Keimzahlen und im Ganzen naturgemäß auch größere Impfstoffmengen ergaben, wie die nach der alten Methode hergestellten. So wurden vermittels dieser Hefenährböden 1575 ccm Cholera- und 4149 ccm Typhusvaccine gewonnen, während die Fleischpeptonagarplatten nur 1175 resp. 4075 ccm lieferten.

Tabelle 6.

Versuche mit Gaßnerschen Hefewasseragarplatten.

Bakterienart	Abschwemmungsflüssigkeit ccm NaCl-Lösung	Gewöhnlicher Agar			Gassner Bierhefeagar		
		Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimzahl in 1 ccm Mill.	Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimzahl in 1 ccm Mill.
Typhus 682. . . .	100	—	115	376	—	120	352
„ Waldhaus .	100	—	100	384	—	86	476
„ Renken . .	100	—	90	400	—	100	382
Typhus II	100	0,190	100	378,8	0,465	145	508
„ III	100	0,237	125	444	0,415	135	465
„ IV	100	0,254	100	297,2	0,455	190	569,2
Cholera Baku . . .	100	0,710	114	1180	0,820	200	1946
„ Riedler . .	100	0,850	120	1044	0,830	100	1820
„ X	100	0,735	83	920	0,790	100	1200
Cholera Baku . . .	100	0,643	143	1332	0,740	210	1320
„ Krakau . .	100	0,414	130	1180	0,691	100	1590
„ Riedler . .	100	0,495	95	1280	0,560	125	1120
Typhus IV	100	0,368	130	301	0,387	125	256
„ V	100	0,378	100	331	0,502	100	257
„ VI	100	0,450	175	226	0,526	130	316

Wie schon früher erwähnt, ist H. Reiter von der Nachprüfung des Gaßnerschen Verfahrens durchaus befriedigt, er sieht aber einen Nachteil der Methode darin, daß nur eine relativ frische Breihefe verarbeitet wird und diese Vorbedingung infolge der Entfernung der Brauereien von bakteriologischen Anstalten recht häufig nicht erfüllt werden kann. Er glaubt diesen Übelstand durch Herstellung eines trockenen, leichten und haltbaren Hefepulvers beseitigt zu haben, das bei Merck-Darmstadt erhältlich ist und 1%ig Leitungswasser zugesetzt eine Stunde ziehen muß und darauf 1 Stunde im Dampftopf oder Autoklaven gekocht wird. Die schließlich durch Watte und Filtrierfilter filtrierte Hefebrühe soll genau dieselben Vorzüge bieten wie die Gaßnersche frische Bierhefe. Da mir das Reitersche Präparat nicht zugänglich war, habe ich selbst versucht, eine entsprechende Vereinfachung für diese Nährbodenbereitung zu ermöglichen und glaube auch damit in einer Eindickung der Hefe einen Ersatz gefunden zu haben. Im Faust-Heimschen Serumtrocknungsapparat wurden nämlich bei ca. 45° C in 4 offenen Schalen 4 Liter Gaßnerscher Hefebrühe bis zur schmierigen dickflüssigen Konsistenz eingeengt und der Rückstand mit Spateln aus den Schalen abgelöst. Die Masse hatte eine dunkelbraune Farbe angenommen, sah aus wie Liebigs Fleischextrakt und konnte dann auch wie dieser in gut verschlossenen Steinguttöpfchen längere Zeit gebrauchsfertig aufbewahrt werden. 4 Liter Hefebrühe ergeben ca. 60 g dieser braunen dickflüssigen Masse. Zur Herstellung der Nährbouillon werden 15 g der eingedickten Bierhefemasse einem Liter Wasser mit 5 g Kochsalz zugesetzt, 1 Stunde im Dampftopf gekocht, filtriert, auf den Lackmusneutralpunkt eingestellt und wie sonst üblich weiterbehandelt. In zahlreichen Versuchen konnte

Tabelle 7.
Impfstoffherstellung auf Gaßnerschen Hefewasseragarplatten.

Bakterienart	Gewöhnlicher Agar			Gaßners Bierhefe-Agar		
	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimzahl in 1 ccm Mill.	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimzahl in 1 ccm Mill.
Cholera Krakau, „ Baku, „ Riedler, „ X	315	1,990	863,2	285	2,650	1035
Cholera Baku, „ Riedler, „ X	330		1048	430		1154,5
Cholera B, „ R, „ X	230	—	1273	320	—	1031
Cholera K, „ B, „ R	300	1,552	1760	Hefebouillon eingedickt 540	1,991	1104
Gesamt-Cholera-Impfstoffmenge	1175			1575		
Typhus I, „ II, „ III, „ IV	855	—	189,5	1045	—	183,8
Typhus 682, „ Wald., „ Renken	990	—	117	900	—	133
Typhus I, „ II, „ III, „ IV	880	0,981	212	1034	1,685	304
Typhus IV, „ V, „ VI	1350	1,196	252	Hefebouillon eingedickt 1170	1,415	298
Gesamt-Typhus-Impfstoffmenge	4075			4149		

ich mich davon überzeugen, daß diese eingedickte Hefemasse dasselbe leistete wie die frische Breihefe. Der Herstellung im Großen dürften bei der Einfachheit der Bearbeitung keine allzu großen Schwierigkeiten im Wege stehen, ebenso wenig wie der Herstellung des Reiterschen Hefetrockenpulvers.

Überblickt man nun das Ergebnis der bisherigen Untersuchungen, so konnte trotz der günstigen Erfahrungen sowohl mit dem Hamburger Hefepepton wie mit den

Gaßnerschen Hefewasser-Nährböden ein absolut vollwertiger Ersatz für die Fleischbouillon nicht gefunden werden, der allen Anforderungen für die Verwendung in der bakteriologischen Allgemeinpraxis genügte. Zwar ließen sich mit beiden Methoden recht gute Wachstumsergebnisse, speziell bei der Impfstoffbereitung, erzielen, dagegen machten sich aber doch vor allem bei der Herstellung der Spezialnährböden derartige Mängel bemerkbar, die mich veranlaßt haben, die Ausarbeitung eines neuen Verfahrens zu versuchen.

III. Versuche mit einem neuen Hefenährboden.

Ich ging dabei von dem Gedanken aus, eine möglichst ausgiebige aber schonende Aufschließung der Hefezellen zu erreichen. Zur Verwendung gelangte dabei untergärige Bierhefe, da hiermit nach Gaßners und meinen eigenen Untersuchungen die größte Ausbeute sowohl hinsichtlich der Nährböden wie der Kulturmenge gewährleistet war. Diese Resultate konnten meines Erachtens durch eine der Abkochung vorhergehende schonende Aufschließung der Hefezellen gesteigert werden. Daß dieses aber nicht auf chemischem Wege erfolgen durfte, hatte die Herstellung der Hamburger Extraktnährböden erwiesen. Ich habe daher eine Autolyse der Hefezellen bei 45° C Bruttemperatur vorgezogen, die mir dann auch durchaus günstige Resultate lieferte.

Eine weitere Verbesserung versprach ich mir durch die Ausschaltung der der Bierhefe anhaftenden, störenden Hopfenharze und Hopfenbitterstoffe, die infolge ihrer antiseptischen Eigenschaften bei dem Auswachsen der Keime störend wirken dürften, worauf auch bereits von Fischer, Bitter und Wagner hingewiesen wurde. Mit einem mehrmaligen Waschen allein war dieses aber nicht zu erreichen, viel besser hat sich mir eine Alkalisierung mit $\frac{n}{1}$ Normalnatronlauge oder kohlensaurem Ammonium (1,5 g auf 10 kg Hefe) bewährt.

Der Gang der Hefeverarbeitung gestaltete sich dabei folgendermaßen: 10 kg untergärige Bierhefe werden mit ca. 20 Liter Wasser angerührt und 2 mal kurze Zeit gewaschen, womöglich unter Zuhilfenahme einer großen Zentrifuge[1]). Zur Entfernung der vorhandenen Bitterstoffe und Hopfenharze wird dann $\frac{n}{1}$ Natronlauge oder kohlensaures Ammonium ca. 1,5 g in dünnem Strahl bei kräftigem Umrühren zugesetzt, bis die gewöhnlich vorhandenen Hefeflocken verschwinden und die ganze Masse eine dunklere, braune Verfärbung angenommen hat. Das Gemisch läßt man $^1/_2$—1 Stunde stehen, in welcher Zeit die Harze und Bitterstoffe gelöst sind, und gibt frisches, kaltes Leitungswasser zu, wodurch eine Ausflockung der Hefe und gutes Absetzen hervorgerufen wird. Nach einigen Stunden hat sich der Hefebrei abgesetzt, die überstehende Flüssigkeit wird abgehebert und der zurückbleibenden Hefemasse nochmals

[1]) Dieses kurzfristige nicht zu häufige Waschen mit nachfolgendem Zentrifugieren erschwert zwar besonders in kleineren Betrieben die Herstellungsmöglichkeit, trotzdem möchte ich aber nicht darauf verzichten, da ein zu langer Aufenthalt im Wasser und das allzu häufige Waschen, wie Gaßner es bei seinem Hefeverfahren vorschreibt, meines Erachtens in Übereinstimmung mit Lindner der Hefe zuviel wertvolle Substanzen entzieht, die nicht ausgenutzt mit dem Waschwasser abgegossen werden.

frisches Wasser zugesetzt. Nach öfterem Umrühren wird die gesamte Hefeflüssigkeit in 5-Literkolben abgefüllt und für 48 Stunden in einen Brutschrank von 45° gebracht, wodurch eine energische Autolyse hervorgerufen wird. Nach Ablauf dieser Zeit hat sich ein Sediment abgesetzt mit darüberstehender brauner Extraktlösung. In den Hefezellen sind nach ausreichender Selbstverdauung keine Plasmaelemente mehr enthalten. Die braune Extraktlösung wird abgegossen und zurückgestellt, der Bodensatz ordentlich mit Wasser ausgezogen und abzentrifugiert. Die abzentrifugierte Flüssigkeit wird mit der erstgewonnenen Extraktlösung zusammengegossen und ergibt ca. 35—40 Liter. Diese werden im Faust-Heimschen Trocknungsapparat bis zur dickflüssigen fleischextraktähnlichen Konsistenz eingedickt und können so gebrauchsfertig aufbewahrt werden. Bei sofort erforderlicher Nährbodenbereitung wird dagegen die zusammengegossene Hefeflüssigkeit in der Weise weiterbehandelt, daß sie im Dampftopf ca. $1^1/_2$ Stunden gekocht wird, die noch in ihr enthaltenen Hefeschwebeteile haben sich dann am Boden oder an den Wänden des Gefäßes niedergeschlagen und die goldgelbe bis bräunliche, wie Fleischbrühe aussehende Hefeextraktlösung wird durch Watte oder Filtrierpapier filtriert, was sehr rasch und ohne größeren Zeitverlust vor sich geht. Darauf erfolgt die Einstellung der meist leicht sauren Lösung auf den Lackmusneutralpunkt, sodann ein Zusatz von 8 g Kochsalz, 0,1 Kaliumnitrat und 0,2 kristallisiertem Natriumkarbonat pro Liter in der Wärme und Sterilisierung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Zur Verwendung von Agarnährböden werden noch 22 g Agar pro Liter hinzugefügt.

Diese vermittels Autolyse und späterer Abkochung aus Bierhefe hergestellte Nährflüssigkeit wurde zunächst anstelle der Fleischbouillon verwandt und hat bei Wachstumsprüfungen mit allen möglichen in der bakteriologischen Praxis häufiger vorkommenden Bakterien wie Typhus-, Paratyphus- und Kolikeimen, Ruhrbacillen, Choleravibrionen, Fäc. alcalig., Bac.-Gärtner enterit., Proteus, Pyocyaneus, Prodigiosus, Streptokokken, Staphylokokken usw., durchwegs zu ebensolch befriedigenden Ergebnissen geführt, wie mit der gew. Nährbouillon, dem Gaßnerschen Hefewasser- und dem Hamburger Hefepepton. Auch konnte bei den Bakterien, die in der gewöhnlichen Fleischbrühe Indol bildeten, wie Proteus, Choleravibrionen, Vibrio Finckler, Kolibacillen usw. ebenfalls in der Hefebouillon eine derartige Indolbildung beobachtet werden. Dieses ist umso beachtenswerter, als daraus hervorgeht, daß die in der Hefe reichlich enthaltenen, ev. zu Zuckerarten abgebauten Kohlehydrate diesen chemischen Vorgang nicht stören, obschon von Gorini (55), Smith (56), Peckham (57) und Seelig (58) beobachtet ist, daß Zuckergehalt des Nährsubstrats die Indolbildung infolge von Säurebildung hindert. Das Vorhandensein des Indols konnte sowohl mit der Ehrlichschen wie mit der Morellischen Indolreaktion nachgewiesen werden.

Zur Bereitung des Peptonwassers zwecks Anreicherung der Choleravibrionen empfiehlt es sich, die Aufschließung der Hefemassen durch Autolyse noch auf längere Zeit auszudehnen und habe ich dabei mit einem Brutschrankaufenthalt von 3 Tagen die besten Erfahrungen gemacht. In einer derartigen 3 Tage lang verdauten Hefenährlösung geht die Anreicherung der Choleravibrionen ausgezeichnet vor sich. In allen Versuchen war kein Zurückbleiben gegenüber dem Witte-Pepton oder dem

Hamburger Hefepepton festzustellen. Das Auskeimen der Choleravibrionen am Spiegel der Kölbchenflüssigkeit war im Gegenteil eher intensiver und augenfälliger. Die Aussaat von 1 Öse Oberflächenwachstum auf Agarplatten ergab mit diesem Hefepeptonwasser fast immer größere Koloniezahlen als auf den Kontrollplatten, die mit Material vom gewöhnlichen Witte-Pepton beschickt wurden. Gestalt, Größe und Beweglichkeit der Vibrionen waren durchaus typisch, ebenso der Ausfall der Cholerarotreaktion. Entsprechend diesen günstigen Ergebnissen fiel auch die chemische Prüfung aus, indem nämlich mit dem Hefepeptonwasser die üblichen Peptonreaktionen einwandsfrei positiv waren (Löslichkeit in Wasser, Unlöslichkeit im Alkohol, Xanthoprotein- und Biuretreaktion usw.).

Die in der oben beschriebenen Weise hergestellten Hefeagarplatten ließen bei den auch zur Prüfung der Hefebouillon herangezogenen Bakterien gute Wachstumsergebnisse selbst bei Beimpfung mit geringen Kulturmengen erkennen, nur war hin und wieder bei den Choleravibrionen und den Kruse-Shiga-Ruhrkeimen ein geringes Zurückbleiben hinter den gewöhnlichen Agarplatten festzustellen. Diese Unterschiede traten aber nur zu Tage, solange die Einstellung der Nährböden wie bei den gewöhnlichen Agarnährböden erfolgte. Die flüssige Agarlösung wurde dabei wie üblich auf den Lackmusneutralpunkt eingestellt und dann 1,5 g Soda zugesetzt, für Choleraplatten die doppelte Menge. Bei dieser Einstellung blieben die Hefecholeraplatten manchmal völlig steril, ebenso die mit 1,5 g Soda alkalisierten bei Beimpfung mit geringen Mengen Kruse-Shiga-Ruhr-Bacillen. Diese Mängel konnten erst behoben werden, nachdem 1 Liter der lackmusneutralen Nährflüssigkeit 8 g Kochsalz, 0,1 g Kaliumnitrat und 0,2 g kristallisiertes Natriumkarbonat für alle Kulturnährböden einheitlich zugesetzt wurde. Nach Einführung dieser Einstellung konnten immer, auch bei Cholera- und Kruse-Shiga-Ruhrbacillen nur gute Wachstumsergebnisse beobachtet werden.

Versuche, durch 0,1—10% Peptonzusatz die Wachstumsergebnisse zu steigern, haben keine Verbesserung mehr erkennen lassen und somit ergeben, daß bei den Hefenährböden auf jedweden Peptonzusatz verzichtet werden kann. Selbst auf Fleischwasseragarplatten fast garnicht oder nur schlecht auskeimende Gonokokken, Pneumokokken und Meningokokken zeigten auf diesen Hefeplatten ein deutliches, wenn auch spärliches Wachstum, das aber durch Zusatz von defibriniertem Kaninchenblut (1:5 Hefeagar) bedeutend und zwar derartig verbessert werden konnte, daß z. B. bei frisch gezüchteten Gonokokken und Pneumokokken der Kulturrasen bedeutend üppiger auskeimte wie auf den sonst üblichen Serum- und Ascitesagarplatten und dabei morphologisch durchaus typische Bilder lieferte.

Agglutininbindende und -bildende Eigenschaften waren bei den gezüchteten Kolonien in gleicher Weise vorhanden wie bei den auf gewöhnlichem Agar gewachsenen und ebenso konnten mit ihnen bei Tierimmunisierungen durchaus befriedigende Resultate hinsichtlich der Bildung agglutinierender und bactericider Antikörper erzielt werden.

Weiter wurde dann auch noch ausprobiert, ob es möglich war, diesen Hefeagar zum Anlegen von Agarstichkulturen heranzuziehen, eine Methode, die sich zum längeren Aufbewahren von Kulturen in Sammlungen gut bewährt hat, da gerade auf

diese Art ein zu baldiges Absterben der Bakterien verhindert und infolgedessen ein längeres Aufbewahren ohne allzu häufige Überimpfung ermöglicht wird. Wegen des größeren Kohlehydratgehaltes der Hefe im Gegensatz zum Nährbodenfleische mußte aber daran gedacht werden, daß dieses vielleicht nicht bei allen Bakterien durchführbar war, vor allem bei denen, die in zuckerhaltigen Nährböden Gas zu bilden pflegen. Wie aber zahlreiche Versuche besonders mit den in Traubenzuckeragarröhrchen gasbildenden Koli-, Paratyphus-A und -B und Gärtner-enteritidis-Bacillen ergeben haben, konnten Anomalien bei den Hefeagarstichkulturen nie beobachtet werden; das Vorhandensein der Kohlehydrate führte bei keinem der geprüften Stämme zu mehr oder weniger ausgesprochener Vergärung oder sonstiger Veränderung des Nährbodens. Vielmehr konnten in diesen Hefeagarröhrchen dieselben Wachstumsverhältnisse festgestellt werden wie in dem mit Fleischwasser in der üblichen Weise bereiteten.

Ebenso zufriedenstellend und unbeeinträchtigt durch den hohen Kohlehydratgehalt waren auch die Wachstumsergebnisse auf Gelatineröhrchen, die statt der Fleischbrühe oder des bei Wasseruntersuchungen amtlich empfohlenen Liebigs Fleischextraktes mit dieser Hefelösung bereitet waren. Es wurde fast durchweg ein ebenso üppiges Auskeimen der Kolonien wie auf den Kontrollröhrchen und -platten erzielt und außerdem konnten typische Farbenunterschiede und Verflüssigungen bei den geprüften Keimen (Koli, Prodigiosus, Violaceus usw.) beobachtet werden.

Tabelle 8.

Wachstumsprüfung auf R. G. A. Hefe-Agar.

Bakterienart	Abschwemmungsmenge ccm	Gewöhnlicher Agar			Hefewasser-Agar		
		Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimgehalt in 1 ccm Mill.	Kulturgewicht g	Transparenz %	Keimgehalt in 1 ccm Mill.
Typhus I	100	0,657	120	392	0,375	135	420
„ II	100	0,529	110	328	0,489	180	360
„ III	100	0,501	145	480	0,733	100	424
„ IV	100	0,407	105	325	0,440	105	320
„ V	100	0,200	100	264	0,343	155	392
„ VI	100	0,362	100	330	0,553	120	340
Typhus V	100	0,200	100	264	0,560	140	280
„ VI	100	0,362	100	330	0,446	260	408
„ W.	100	0,438	156	449	0,357	181	680
„ R.	100	0,856	130	320	0,305	160	706
Cholera X.	100	0,529	100	1260	0,603	100	1080
„ Krakau	100	0,447	320	1600	0,420	115	1540
„ Baku	100	0,393	100	1560	0,409	130	1680
„ Riedler	100	0,461	145	1280	0,482	136	1400
Cholera R.	100	0,552	125	1160	0,345	100	1050
„ X.	100	0,262	100	720	0,446	120	840
„ B.	100	0,393	100	1560	0,620	175	2080
„ Rr.	100	0,461	145	1280	0,367	115	2280

Tabelle 9.

Impfstoffherstellung auf R. G. A. Hefe-Agarplatten.

Impfstoff, hergestellt aus den Bakterien:	Gewöhnlicher Agar			Hefewasser-Agar		
	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimgehalt in 1 ccm Mill.	Impfstoffmenge ccm	Kulturgewicht g	Keimgehalt in 1 ccm Mill.
Typhus I, „ II, „ III, „ IV, „ V, „ VI	1200	2,656	177	1530	2,933	148
Typhus IV, „ V, „ VI	1350	1,196	146	2400	2,942	228
Typhus V, „ VI, „ W., „ R.	775	1,456	257	1143	1,442	287
Gesamtmenge des Typhusimpfstoffes	3525			5073		
Cholera X., „ Kr., „ B., „ R.	340	1,830	1647	400	1,980	1415
Cholera Kr., „ vir., „ Baku	300	1,388	2600	600	1,934	1960
Cholera R., „ X., „ B., „ Kr.	340	1,680	1438	500	2,102	1280
Gesamtmenge des Choleraimpfstoffes	980			1500		

Nach diesen günstigen Erfahrungen war es nun weiter von Interesse, festzustellen, ob den Hefeagarröhrchen mit ihrem Reichtum an Kohlehydraten zu differentialdiagnostischen Zwecken noch die üblichen Zuckerarten zugesetzt werden könnten, ohne daß dadurch die Vergärung und Gasbildung usw. bei den in Frage kommenden Bakterien störend beeinflußt würden. Wie zahlreiche Versuche mit den Kolibakterien, den Keimen der Typhus-, Paratyphus- und Ruhrgruppe usw. ergeben haben, verliefen die Reaktionen absolut typisch, indem nämlich die Typhus- und Ruhrbakterien weder

in Traubenzucker- noch in Milchzucker-Hefeagarröhrchen Gas bildeten, während die Paratyphuskeime in Traubenzucker- und die Kolibacillen sowohl in diesen wie in Milchzucker-Hefeagarröhrchen erhebliche Vergärung und Gasbildung unter Sprengung der Agarsäule hervorriefen. Störungen durch den hohen Kohlehydratgehalt der Hefe konnten somit nicht festgestellt werden. Auch bei der Bereitung der Neutralrotagarröhrchen hat sich der Hefewasserzusatz gut bewährt. Sämtliche in Frage kommenden Keime zeigten darin dasselbe Verhalten wie im Kontrollröhrchen mit Fleischbouillonneutralrotagar.

Günstig sind ebenfalls die Erfahrungen bei der Verwendung der autolysierten Hefeextrakte zur Herstellung der Lackmus- und Fuchsinelektivnährböden. Das Wachstum aller in Betracht kommenden Bakterien war auf diesen durchaus typisch und üppig, jedoch empfiehlt es sich, die Hefeextraktfuchsinlösungen für die Endoplatten stets frisch anzusetzen, da bei längerem Aufbewahren der Agar leicht eine rötliche Verfärbung annimmt, wodurch die Übersichtlichkeit und die Unterscheidung der fraglichen Kolonien beeinträchtigt werden kann.

Endlich muß noch mitgeteilt werden, daß auch bei der Impfstoffherstellung sich diese Hefeextrakte ebenfalls recht gut bewährt haben, wie aus den Tabellen 8 und 9 (S. 362 u. 363) hervorgeht.

Vor allem bei den Typhusbacillen war die Menge, Keimzahl, Kulturgewicht und Dichtigkeit der erhaltenen Impfstoffe durchwegs erheblich größer als bei dem gleichzeitig auf gewöhnlichem Agar hergestellten, während diese Unterschiede bei den Versuchen mit Cholerakulturen nicht so ausgeprägt in die Erscheinung traten.

Die Hefeextraktlösung läßt sich mit Leichtigkeit bis zur dickflüssigen fleischextraktähnlichen Konsistenz eindicken und 5 Liter davon ergeben ca. 75 g dieser zähen bräunlichen Masse, von der 15 g auf 1 Liter Wasser zugesetzt werden müssen, um eine leistungsfähige Nährflüssigkeit herzustellen, die, in der vorhin beschriebenen Weise eingestellt, zur Bereitung der flüssigen und festen Nährböden ausreicht.

IV. Prüfung des Antigengehalts und der Toxicität der auf Hefenährböden hergestellten Impfstoffe.

In den bisherigen Besprechungen ist bei der Verwendung der verschiedenen Hefenährböden zur Impfstoffbereitung noch garnicht berücksichtigt worden, ob der Antigenwert der Hefeimpfstoffe derselbe ist wie bei den auf Fleischwasserpeptonnährböden bereiteten und ob durch die Injektionen nicht erheblichere Störungen resp. mehr toxische Wirkungen hervorgerufen werden als bei der bisher üblichen Vaccination gegen Cholera und Typhus.

Diese Fragen hätten sich am besten durch Impfversuche an Menschen ermitteln lassen und zwar durch Bestimmung des Gehaltes des Blutes an den in Betracht kommenden Antikörpern und durch Beobachtung des Allgemeinbefindens, der Gewichts- und Temperaturkurve im Anschluß an die Injektionen. Da es sich aber in früheren Versuchen herausgestellt hat, daß die geimpften Menschen außerordentlich verschieden reagieren und bei einem erheblichen Teil derselben Antikörper überhaupt nicht, bei anderen nur kurze Zeit nachweisbar sind, so wäre ein großes Impfmaterial zur Ent-

scheidung der vorliegenden Fragen nötig gewesen. Zur Vornahme der Impfungen standen mir Menschen aber nicht in genügender Zahl zur Verfügung und mußte ich mich deshalb darauf beschränken, die Impfungen und Beobachtungen an Versuchstieren anzustellen. Zu diesem Zwecke wurden Meerschweinchen mit den verschiedenen von gleichen Stämmen hergestellten Hefe-Cholera- und Typhusimpfstoffen von gleicher Dichte und demselben Keimgehalt gespritzt, die Gewichte der Tiere vor und nach der Behandlung festgestellt, die Temperatur 2 mal täglich gemessen und am Schlusse der Behandlungszeit der Antigenwert des Impfstoffes durch den Immunisierungseffekt vermittels des Pfeifferschen Versuches mit sicher tötlichen Cholera- und Typhus-Kulturdosen festgestellt, da der Immunisierungsversuch mit nachfolgender Infektion durch eine sicher tötliche Dosis die beste Methode ist, um an Versuchstieren den Schutzwert eines Impfstoffes festzustellen, zumal auch bei den Versuchstieren der Gehalt des Blutes an Antikörpern durchaus nicht immer dem erzielten Immunitätsgrade entspricht.

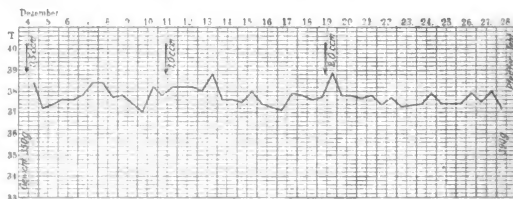
Die Impfdosis wurde bei den Cholera- und Typhusimpfstoffen zunächst genau der Vorschrift für die Vaccination beim Menschen entsprechend gewählt (also bei Cholera $^1/_2$ und 1 ccm, bei Typhus $^1/_2$, 1 und 2 ccm) und außerdem wesentlich kleiner, indem nämlich bei beiden Impfstoffarten nur $^1/_{20}$, $^1/_{10}$ und $^1/_5$ ccm den Meerschweinchen intraperitoneal in Intervallen von 7—8 Tagen gegeben wurden. Zur Kontrolle wurden gleichzeitig auch Tiere mit den gewöhnlichen Impfstoffen geimpft und die Dosierung genau ebenso gewählt.

Wie aus den in Tabelle 10 beigefügten Gewichtszahlen hervorgeht, war ein Gewichtsverlust bei keinem der mit Hefe- oder gewöhnlichem Impfstoff behandelten Tiere wahrzunehmen, bei den meisten erfolgte vielmehr eine Zunahme im Laufe der Beobachtungszeit.

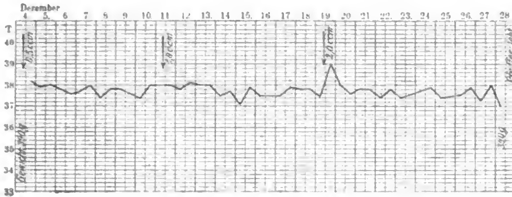
Die beigegebenen Temperaturkurven lassen wesentliche Unterschiede nicht erkennen, abgesehen von den beiden Meerschweinchen, die mit dem Choleraimpfstoff behandelt wurden, der auf den Hamburger Hefe-Extrakt-Platten hergestellt war. Es war nach der ersten Injektion bei beiden Tieren sowohl nach der größeren wie der kleineren Impfdosis eine erhebliche Temperaturherabsetzung gegenüber den anderen Meerschweinchen und den Kontrolltieren zu beobachten (siehe die Temperaturkurven). Die Tiere, die zunächst einen abgeschlagenen, müden und apathischen Eindruck machten, erholten sich allmählich wieder, zeigten nach den späteren Injektionen nichts Absonderliches mehr und überstanden zum Schluß den Pfeifferschen Versuch ebenso wie die gleichzeitig immunisierten. Diese beiden Temperaturstörungen wurden hervorgerufen durch Injektionen von Impfstoffen, welche vermittels solcher Hefepräparate hergestellt waren, die auch bei den früher beschriebenen Prüfungen gleichfalls schlechte Ergebnisse und manchmal totale Versager geliefert hatten. Die anderen Hefeimpfstoffe haben dagegen keine toxischen Wirkungen oder Schädigungen der Versuchstiere erkennen lassen und dürften von diesem Gesichtspunkte aus der praktischen Verwendung keine Hindernisse im Wege stehen, soweit man aus Tierversuchen Schlüsse ziehen darf. Erfahrungen, die an mit Hefeimpfstoffen gespritzten Menschen gemacht werden, können letzten Endes hierbei erst die Entscheidung bringen. Nach den Mitteilungen aus den Kieler und Münchener Instituten zu urteilen, ist der Hefeimpfstoff

Tabelle 10.

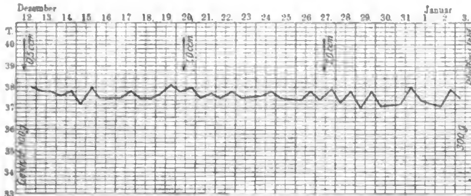
Meerschweinchen Nr.	Immunisiert mit	Verabfolgte Impfdosis	Gewicht vor der Impfung g	Gewicht nach der Impfung g
944	Typhus-Impfstoff (gewöhnlich) .	0,5—1,0—2,0	350	390
948	desgl.	0,05—0,1—0,2	240	340
943	Typhus-Impfstoff, Gaßner, Bierhefe Agar	0,5—1,0—2,0	390	390
947	desgl.	0,05—0,1—0,2	250	330
824	Typhus-Impfstoff, Hamburger Extrakt-Agar	0,5—1,0—2,0	260	260
825	desgl.	0,05—0,1—0,2	290	295
955	Typhus-Impfstoff Hamburger Hefepepton Agar	0,5—1,0—2,0	300	300
956	desgl.	0,05—0,1—0,2	300	300
957	Typhus-Impfstoff R. G. A. Hefe Agar	0,5—1,0—2,0	380	380
958	desgl.	0,05—0,1—0,2	450	460
946	Cholera-Impfstoff (gewöhnlich) .	0,5—1,0	250	265
949	desgl.	0,05—0,1—0,2	270	350
945	Cholera Impfstoff, Gaßner, Bierhefe-Agar	0,5—0,1	250	255
948	desgl.	0,05—0,1—0,2	250	265
826	Cholera-Impfstoff, Hamburger Extrakt-Agar	0,5—1,0	290	300
827	desgl.	0,05—0,1—0,2	310	325
814	Cholera-Impfstoff, Hamburger Hefepepton-Agar	0,5—1,0	400	400
954	desgl.	0,05—0,1—0,2	450	450
959	Cholera-Impfstoff R. G. A. Hefe-Agar	0,5—1,0	450	450
960	desgl.	0,05—0,1—0,2	430	450



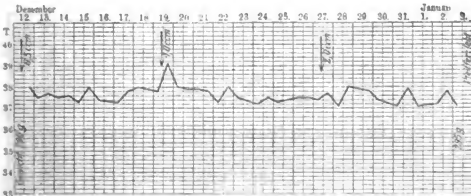
Meerschweinchen 944
gespritzt mit Typhusimpfstoff, hergestellt auf gewöhnlichem Fleischwasseragar.



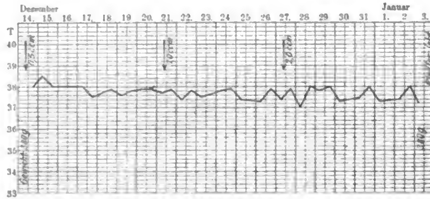
Meerschweinchen 943
gespritzt mit Typhusimpfstoff, hergestellt auf Gaßners Bierhefeagar.



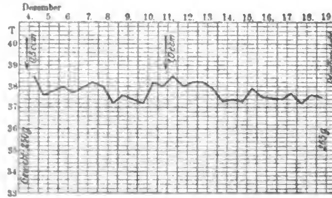
Meerschweinchen 824
gespritzt mit Typhusimpfstoff, hergestellt auf Hamburger Hefeextraktagar.



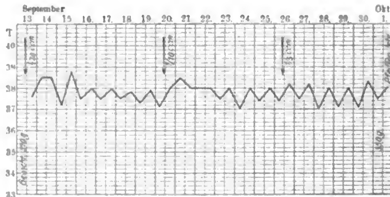
Meerschweinchen 955
gespritzt mit Typhusimpfstoff, hergestellt auf Hamburger Hefeagar.



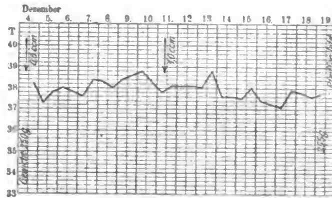
Meerschweinchen 957
gespritzt mit Typhusimpfstoff, hergestellt auf Reichsgesundheitsamt-Hefeagar.



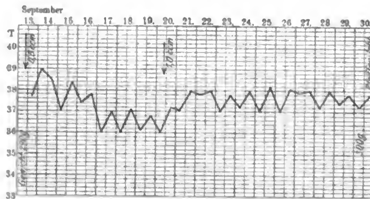
Meerschweinchen 946
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf gewöhnlichem Fleischwasseragar.



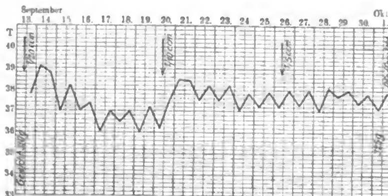
Meerschweinchen 949
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf gewöhnlichem Fleischwasseragar.



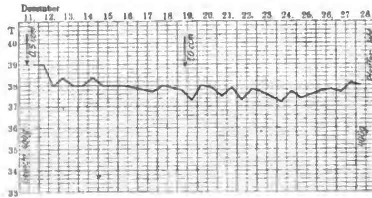
Meerschweinchen 945
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf Gaßners Bierhefeagar.



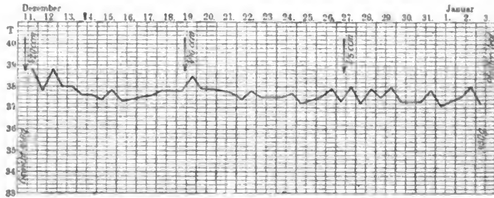
Meerschweinchen 826
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf Hamburger Hefeextraktagar.



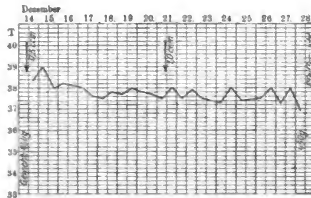
Meerschweinchen 827
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf Hamburger Hefeextraktagar.



Meerschweinchen 814
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf Hamburger Hefeagar.



Meerschweinchen 954
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf Hamburger Hefeagar.



Meerschweinchen 959
gespritzt mit Choleraimpfstoff, hergestellt auf Reichsgesundheitsamt-Hefeagar.

dort schon längere Zeit und in großen Quantitäten hergestellt worden und dürfte wohl infolgedessen auch in vielen Fällen beim Menschen schon zur Injektion gekommen sein. Üble Erfahrungen scheinen dabei nicht gemacht zu sein, da eine dementsprechende Mitteilung oder Warnung vor dem Gebrauch der Hefeimpfstoffe nicht erschienen ist.

Der Ausfall der Pfeifferschen Versuche war bei allen Tieren durchaus günstig und gleichmäßig. Die zur Anstellung der Versuche verwandten Cholera- und Typhuskulturen waren hochvirulent, indem von der ersteren $^1/_{20}$ Öse und der letzteren $^1/_{10}$ Öse sicher tötete. Es wurde in allen Fällen je 1 Öse injiziert. Sowohl die größeren wie die kleineren Impfstoffdosen hatten nach der oben genauer beschriebenen Behandlung allen Tieren einen solchen Schutz verliehen, daß sie sogar die 10- resp. 20 fache tödliche Kulturdosis mit Sicherheit überstanden. Ein wesentlicher Unterschied in der Qualität der zur Prüfung gelangten Impfstoffe war somit nicht festzustellen.

Gleichzeitig angestellte Immunisierungsversuche bei Kaninchen ließen nach 3 maligen i. v. Injektionen von $^1/_2$, 1 und 2 ccm keine Unterschiede in der Bildung der Agglutinine erkennen, die Seren aller mit den verschiedenen Hefe- und den gewöhnlichen Impfstoffen vorbehandelten Tiere zeigten einen Titer, der zwischen 1 : 6000 und 1 : 10000 schwankte. Dieselben Erfahrungen waren ja auch in den Fällen gemacht worden, als es sich darum handelte, die agglutininbildenden und -bindenden Eigenschaften bei dem Serum der Tiere festzustellen, die mit $^1/_2$, 1 und 2 Ösen Kulturen der verschiedenen Hefeagarplatten intravenös gespritzt waren. Diese zeigten ebenso wie die mit gewöhnlichen Agarkulturen gespritzten Tiere Agglutinationswerte, die zwischen 1 : 15000 und 1 : 20000 schwankten. $^1/_{1000}$ ccm von allen diesen Seren gab Meerschweinchen bei Pfeifferschen Versuchen den Schutz, eine gleichzeitige i. p. Infektion mit $^1/_2$ Öse hochvirulenter Cholera- resp. Typhuskultur zu überstehen.

Zum Schluß wurde noch die Antigenmenge der verschiedenen Cholera- und Typhusimpfstoffe quantitativ mittels der Komplementfixierung nach Bordet und Gengou festgestellt, wie dieses bereits früher von mir (59) zur Prüfung der Brauchbarkeit gelagerter Impfstoffe empfohlen worden ist. Von den verschiedenen Impfstoffen wurden als Antigen 0,1 bis 0,0001 mit 0,05 bactericidem Cholera- resp. Typhusserum gemischt, Komplement zugefügt und in der üblichen Weise nach einstündigem Aufenthalt bei 37° mit Hammelblutkörperchen und Amboceptor beschickt. Die Ablesung erfolgte nach 18 Stunden. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 11 und 12 (S. 372) zusammengestellt.

Wie daraus hervorgeht, sind auch bei dieser Untersuchungsmethode wesentliche Unterschiede weder bei den Cholera- noch bei den Typhusimpfstoffen festzustellen. Die auf gewöhnlichen Fleischwasserpeptonagarplatten gewonnenen Impfstoffe ließen gegenüber den auf den verschiedenen Hefenährböden bereiteten keine Vorteile bezüglich des Antigenwertes erkennen.

Zusammenfassung.

Zum Schluß möchte ich kurz zusammenfassend feststellen, daß wir in den Hefezellen vor allem aber in der untergärigen Bierhefe einen Stoff haben, der, wenn auch die verschieden angegebenen Methoden nicht als durchaus gleichwertig angesehen

Tabelle 11.

Impfstoff (Antigen)	Bactericid. Cholera-serum (Antiserum)	Komplement	Hämolyt. Amboceptor + Hammelblutkörperchen	Gew. Agar-Impfstoff	Gaßners Agar-Impfstoff	Hamburger Extrakt-Impfstoff	Hamburger Hefepepton-Agar-Impfstoff	R. G. A. Hefe-Impfstoff
0,1	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,05	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,025	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,01	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,005	0,05	0,1	2,0	0	+	0	+	+
0,0025	0,05	0,1	2,0	+ +	+	+ +	+ +	+ +
0,001	0,05	0,1	2,0	+ + +	+ +	+ +	+ + +	+ + +
0,0005	0,05	0,1	2,0	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
0,0001	0,05	0,1	2,0	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
Kontrolle 1	3,0 NaCl	—	2,0	0				
„ 2	2,0 NaCl	0,1	2,0	+ + +				
„ 3	0,1 Antigen	0,1	2,0	+ + +				
„ 4	0,1 Antiserum	0,1	2,0	+ + +				

Tabelle 12.

Impfstoff (Antigen)	Bactericid. Typhus-serum (Antiserum)	Komplement	Hämolyt. Amboceptor + Hammelblutkörperchen	Gew. Agar-Impfstoff	Gaßners Bierhefe-Agar-Impfstoff	Hamburg. Extrakt-Agar-Impfstoff	Hamburger Hefe-Agar-Impfstoff	R. G. A-Hefe-Agar-Impfstoff
0,1	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,05	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,025	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,01	0,05	0,1	2,0	0	0	0	0	0
0,005	0,05	0,1	2,0	+	0	+	0	0
0,0025	0,05	0,1	2,0	+	0	+ + +	+ +	+
0,001	0,05	0,1	2,0	+ +	+ +	+ + +	+ + +	+ +
0,0005	0,05	0,1	2,0	+ +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +
0,0001	0,05	0,1	2,0	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
Kontrolle 1	3,0 NaCl	—	2,0	0				
„ 2	2,0 NaCl	0,1	2,0	+ + +				
„ 3	0,1 Antigen	0,1	2,0	+ + +				
„ 4	0,1 Antiserum	0,1	0,1	+ + +				

werden können, sicherlich geeignet erscheint, in Form von Hefeabkochungen oder Extrakten anstelle des Rindfleisches oder der Fleischextrakte zur Gewinnung von Nährbouillon oder Nähragar herangezogen zu werden. Am besten haben sich mir dabei Bierhefeabkochungen mit oder ohne vorhergehender Autolyse bewährt, während

Hefepeptone und Hefepeptonextrakte aus Branntwein-Getreide-Preßhefe nicht ganz so befriedigende Resultate lieferten.

Zur Verwendung als Peptonwasser bei der Choleradiagnose dürften meines Erachtens besonders autolysierte Bierhefeextrakte oder das Kammannsche Hefepepton in Frage kommen, da sowohl bei den andern Extrakten wie bei dem Gaßnerschen Hefewasser Oberflächenwachstum und Vibrionenanreicherung nicht in entsprechender Weise beobachtet werden konnte. Ferner können zur Herstellung der Electivnährböden bei der Typhus- und Ruhrdiagnose trotz ihres hohen Kohlehydratgehaltes die Hefepräparate als Ersatz für die Fleischbrühe herangezogen werden. Am besten eignen sich dazu die autolysierten Hefeextrakte, indem nämlich mit diesen sowohl in Traubenzucker-, Milchzucker- und Neutralrothefeagarröhrchen wie auf Drigalski-Lackmus- und Endofuchsin-Platten meist durchaus typische Untersuchungsergebnisse gezeitigt werden konnten. Nur bei den Endofuchsinnährböden waren manchmal insofern Abweichungen zu beobachten, als fast immer sehr bald eine Rötung der gesamten Agarmasse eintrat, die die Übersichtlichkeit erheblich störte. Es empfiehlt sich daher, die Endonährböden jedesmal frisch anzusetzen.

Zur Bereitung der Schutzimpfstoffe gegen Cholera und Typhus können alle besprochenen Hefenährböden Verwendung finden. Die besten Ergebnisse und größten Impfstoffmengen wurden wiederum mit den neuen Autolyse-Abkochungen erzielt, die am wenigsten befriedigenden dagegen mit dem Hamburger Hefepepton + Extraktivstoffe, da die Wachstumsergebnisse dabei zu unregelmäßig waren. Unterschiede betr. des Antigenwertes der Hefeimpfstoffe konnten sowohl im Tierversuch, wie durch serologische Untersuchungen nicht festgestellt werden und es war stets derselbe Immunisierungseffekt wie mit den gewöhnlichen bisher gebräuchlichen Impfstoffen zu beobachten. Bei gleichzeitiger Temperatur- und Gewichtskontrolle konnten erheblichere Störungen oder toxische Wirkungen bei den Versuchstieren nicht festgestellt werden.

Auf Grund dieser Untersuchungsergebnisse ist daher anzunehmen, daß wir in den Hefezellen, vor allem aber in der Bierhefe einen Stoff besitzen, der in Form von Abkochungen, besonders aber in Form von autolysierten Hefeextrakten anstelle des teueren Rindfleisches oder Fleischextraktes zur Gewinnung von Nährbouillon mit Erfolg herangezogen werden kann.

Literaturverzeichnis.

1. **Stolp**, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 58, 1911.
2. **Hart**, Dieselbe Zeitschrift, Bd. 50, 1909.
3. **Marx**, Münchener med. Wochenschrift 1910, Nr. 7.
4. **Gaßner**, Zentralblatt f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 79.
5. **Szasz**, Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 75, 1915 und Bd. 77.
6. **Schmitz**, Zentralblatt f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 76, 1915.
7. **Lichtenstein**, Zentralblatt f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 77, 1916.
8. **Langer**, Deutsche med. Wochenschrift 1917, S. 720.
9. **Cantani**, Zentralblatt f. Bakt. I. Abt. Bd. 20, 22 und 53.
10. **Heller**, Berliner klinische Wochenschrift 1890.

11. Piorkowski, Berliner med. Gesellschaft, Sitzung vom 25. 1. 1899.
12. Raskin, Petersburger med. Wochenschrift 1887.
13. Köhlisch und Otto, Zeitschrift f. Hyg. Bd. 80, 1915, S. 431.
14. Sobel, Deutsche med. Wochenschrift 1915, S. 1573.
15. Noblécourt, Journ. de physiol. et pathol. génér. Vol. 9, 1907, p. 1024.
16. Sasai, Zeitschrift für Militärärzte 1911. Nr. 23.
17. Guth, Deutsche med. Wochenschrift 1915, S. 1544.
18. Rochaix, Compt. renl. Soc. de Biol. T. 74, 1913, p. 604.
19. de Lagerheim, Zentralblatt f. Bakt. Bd. 11.
20. Reiter, n. Friedberger u. Reiter, Kolle u. Wassermann, Handbuch der pathog. Mikroorg. Bd. 1, 2. Aufl. 1912, S. 409.
21. Uyeda, Zentralblatt f. Bakt. I. Abt. Ref. Bd. 39, 1907.
22. Heim, Lehrbuch der Bakteriologie, 4. Aufl. 1911, S. 102.
23. Hirschbruch und Diehl, Deutsche med. Wochenschrift 1915, S. 606.
24. Holz, Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. 8, 1890.
25. Gäthgens, Zentralblatt f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 78, 1916, S. 45.
26. Kruse, Allgem. Mikrobiol. Leipzig 1910.
27. Pasteur, Compt. rend. sc. 48. — Ann. chim. et phys. 58 u. 64.
28. Cohn, J., Beitr. z. Biol. der Pflanzen, 1872.
29. Uschinsky, Zentralblatt f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. I4, 1893.
30. Fränckel, Hyg. Rundschau Bd. 4 u. 5. 1895.
31. Maassen, Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 9, 1894.
32. Proskauer und Beck, Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 18, 1894.
33. A. Meyer, Praktikum der botan. Bakterienkunde. Jena 1903, S. 15.
34. Voit, zitiert nach M. Dellbrück. Illustr. Brauerei-Lexikon, Berlin 1910, S. 454.
35. Euler und Lindner, Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung, Leipzig 1915.
36. Stutzer, vergl. Euler und Lindner, Seite 62.
37. Hahn und Geret, Zeitschr. f. Biol. 40, 142; 1900.
38. Kutscher, Zeitschrift f. Biol. 32, 59; 1901.
39. Wroblewski, Journ. f. prakt. Chemie (N. F.) 64, 33; 1901.
40. Schenk, Wochenschr. f. Br. 22, 221; 1905.
41. Schröder, Hofm. Beitr. 2, 389; 1902.
42. F. Ehrlich, Biochem. Zeitschr. 8, 399; 1908.
43. Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 43, 1782; 1910.
44. Hoppe und Seyler, Med.-chem. Unters. von Hoppe-Seyler Heft 1, 2, 3 und Heft 4.
45. Koch, H., Med.-chem. Unters. von Hoppe-Seyler Heft 37, 1903.
46. Kruse, Allg. Mikrobiol. Leipzig 1910.
47. Beyerinck, M. W., Zentralblatt f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 9, 1890.
48. Schönfeld, siehe Lindner, Mikroskop. Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, 5. Aufl. Berlin 1909.
49. Will, H., Anleitung zur biolog. Untersuchung und Begutachtung von Bierhefe usw. München 1909, S. 445.
50. Fischer, Bitter und Wagner, Münch. med. Wochenschr. 1915, S. 770.
51. Gnggenheimer, Zentralblatt f. Bakt. J. Abt. Orig. Bd. 77, 1916, S. 363.
52. Reiter, H., Deutsche med. Wochenschr. 1917.
43. Kammann, Patentschrift Nr. 307 831. Klasse 30 M. Gruppe 14.
54. Kressler, A., Zentralblatt f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 80.
55. Gorini, Zentralblatt f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 13, S. 791. 1893.
56. Smith, Journ. of exper. Med. Vol. 2, p. 542. Vol. 3, p. 677. 1897.
57. Peckham, Journ. of exper. Med. Vol. 2, p. 579. 1897.
58. Seelig, Virchows Archiv Bd. 146.
59. Jötten, Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. 83. 1917.

Ende des 2. Heftes.

Abgeschlossen am 22. Juni 1920.

ARBEITEN

AUS DEM

REICHSGESUNDHEITSAMTE

(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes)

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND

DRITTES HEFT

BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1920

(Ausgegeben im Oktober 1920)

Inhalts-Verzeichnis

Fortsetzung auf Seite 3.

Die Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben.

Nach Untersuchungen

von

Prof. **Dr. Zwick,** früherem Regierungsrat,

Dr. Zeller, Regierungsrat,

Dr. Krage, früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter,

Dr. Gminder, wissenschaftlichem Hilfsarbeiter

im Reichsgesundheitsamte.

Zusammengestellt und bearbeitet

von

Dr. Adolf Gminder.

I. Einleitung.

Im Jahre 1911 haben Zwick und Zeller im Anschluß an ihre Untersuchungen über den infektiösen Abortus des Rindes mit Versuchen zur Feststellung eines geeigneten Immunisierungsverfahrens gegen das ansteckende Verkalben begonnen. Die von ihnen in einer Reihe von Viehbeständen eingeleiteten Impfungen sind später von Zwick und Krage weiter ausgedehnt und im Jahre 1913 von mir übernommen und fortgesetzt worden. Bei Kriegsausbruch mußten die Versuche, bei denen verschiedene Kreistierärzte und praktische Tierärzte mitwirkten, erheblich eingeschränkt und im zweiten Kriegsjahre ganz unterbrochen werden, da infolge der Einberufung vieler Tierärzte und Viehbesitzer und der zunehmenden Beeinträchtigung der Viehzucht eine wissenschaftliche Durchführung der Impfungen nicht mehr möglich war. Bis zur Einstellung der Versuche im Herbst 1915 waren 123 Viehbestände mit 5136 Rindern und Kühen dem Impfverfahren unterworfen worden.

Die Erfahrungen, die bei diesen Versuchen über die Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben gesammelt werden konnten, sind in vorliegender Arbeit zusammengefaßt, die zugleich einen vorläufigen Abschluß der Abortusimpfungen darstellt.

II. Literatur.

Die Entdeckung des Abortusbazillus durch Bang und Stribolt im Jahre 1897 war für die Bekämpfung des ansteckenden Verkalbens ganz besonders wichtig. Waren

bis zu diesem Zeitpunkt zur Verhütung der Abortusfälle hauptsächlich vorbeugende Maßnahmen ergriffen worden, so gab die Auffindung des Erregers die Möglichkeit, das ansteckende Verkalben durch eine Immunisierung der verseuchten Viehbestände wirksam zu bekämpfen. Verschiedene der festgestellten Beobachtungen über diese Krankheit ließen eine Immunisierung von vornherein aussichtsreich erscheinen; wies doch schon die Tatsache, daß Kühe nach einmaligem oder wiederholt erfolgtem Abortus vielfach wieder in normaler Weise kalben, auf das Zustandekommen einer natürlichen Immunität hin.

Als erster hat Bang im Jahre 1902 versucht, nichtträchtige Färsen gegen das ansteckende Verkalben künstlich zu immunisieren. Dieser Versuch mißlang jedoch, da die immunisierten Färsen nicht trächtig wurden. In den folgenden Jahren hat dann Bang seine Versuche des öfteren wiederholt. Als Versuchstiere benützte er Rinder, Schafe und Ziegen. Zur Immunisierung verwendete er sowohl lebende Serumbouillonkultur, als auch Serumbouillonkultur, die durch Zusatz von Toluol abgetötet worden war. Die Einverleibung der Impfstoffe geschah intravenös und subkutan und erfolgte mehrmals in kürzeren oder längeren Zeitabschnitten. Zur Prüfung der erlangten Immunität wurden die geimpften Tiere später, nachdem sie trächtig geworden waren, teils mit virulenter Kultur intravenös infiziert, teils mit Kulturmaterial oder mit infektiösem Uterusexsudat von frischen Abortusfällen gefüttert.

Die Versuche an Schafen und Ziegen haben ergeben, daß diese Tiere durch subkutane Injektion von lebender Kultur gegen eine nachfolgende kräftige Fütterungsinfektion geschützt werden konnten, während die Impfung mit abgetöteter Kultur den Tieren nur einen geringen Schutz verlieh, der einer Infektion auf dem Wege des Verdauungskanals nicht standhielt.

Schwieriger als Schafe und Ziegen waren Kühe durch subkutane Impfung mit lebender Abortuskultur gegen eine starke Fütterungsinfektion zu immunisieren.

Die Gesamtergebnisse der Bangschen Immunisierungsversuche, bei denen stets Kontrolltiere verwendet wurden, lassen sich im folgenden zusammenfassen.

Die intravenöse Einspritzung lebender Bacillen hat bei 3 Färsen eine Immunität gegen eine starke Fütterungsinfektion erzeugt. Bei 2 Färsen, von denen die eine 16, die andere 41 Tage vor der Befruchtung geimpft worden war, trat Abortus ein.

Von 11 in der gleichen Weise behandelten Schafen und 15 Ziegen verwarfen ein Schaf, bei dem die Immunisierung allerdings zwei Jahre zurücklag, und 2 Ziegen, die zu kurze Zeit, nämlich 11 und 20 Tage vor der Befruchtung mit Bacillen geimpft worden waren.

Die subkutane Einspritzung lebender Bacillen, mehrmals wiederholt, vermochte bei 5 Rindern nur in einem Fall Immunität gegen eine künstliche Fütterungsinfektion zu erzeugen. Bei Schafen war dieses Verfahren in 9 und bei Ziegen in 21 Fällen von Erfolg, während 1 Schaf und 2 Ziegen nicht trächtig wurden und 1 Schaf abortierte.

Die subkutane Einspritzung abgetöteter Bacillen hat bei Rindern nur in zwei Fällen Immunität gegen Fütterungsinfektion hervorgerufen, während in 3 Fälllen

die Immunisierung mißlang. Bei Schafen war das Verfahren in 8 Fällen von Erfolg und in einem Fall ohne Erfolg.

Bang ist es demnach mit Hilfe verschiedener Impfverfahren gelungen, Tiere gegen eine nachfolgende künstliche Fütterungsinfektion zu immunisieren. Die Immunität reichte jedoch nicht aus, um in allen Fällen gegen eine intravenöse Injektion von Abortusbacillen zu schützen.

Die Beobachtung, daß auch die subkutane Injektion einer mit Toluol abgetöteten Serumbouillonkultur die Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen eine Abortusinfektion ganz wesentlich zu erhöhen vermag, veranlaßte Bang, seine Untersuchungen nach dieser Richtung weiter zu verfolgen. Er ließ durch verschiedene dänische Tierärzte Versuche mit einem von ihm hergestellten Impfstoff in Rindviehbeständen vornehmen, in denen das ansteckende Verkalben herrschte. Der Impfstoff, der aus 10 ccm einer mit Toluol abgetöteten Bouillonkultur bestand, wurde vor der Kohabitation 4—6 mal in 14tägigen Zwischenräumen subkutan einverleibt. In einigen Fällen wurden die Impfungen noch in der ersten Zeit der Trächtigkeit fortgesetzt. Die Ergebnisse der Versuche waren sehr schwankende. In einigen Fällen hatten die Impfungen einen guten Erfolg, in anderen Fällen war dagegen der Nutzen gering.

Später hat Bang seine Versuche über die intravenöse Impfung mit lebenden Bacillen wieder aufgenommen. Die bei früheren Impfungen beobachteten, auf anaphylaktische Wirkung zurückzuführenden, oft sehr unangenehmen Begleiterscheinungen konnte Bang fast gänzlich vermeiden, indem er der Bouillon Rinderserum an Stelle des früher verwendeten Pferdeserums zusetzte. Die Einspritzung erfolgte zweimal im Abstand von vier Wochen. Zwischen der letzten Impfung und der Kohabitation lag ein Zeitraum von zwei Monaten, da die Erfahrungen bei früheren Versuchen eine solche Frist als notwendig erwiesen hatten, um jede Gefahr eines durch die Impfung bedingten Verwerfens völlig auszuschalten. Diese Impfungen lieferten im allgemeinen ganz günstige Ergebnisse, die indessen keine zu weitgehenden Schlüsse gestatten, da sie nur in beschränktem Umfang durchgeführt werden konnten. Immerhin scheint aus ihnen hervorzugehen, daß lebende Abortusbacillen für die Immunisierung besser geeignet sind als abgetötete Kulturen.

Im Jahre 1906 stellte das englische „Epizootic Abortion Committee“ subkutane Impfversuche mit Abortuskultur in Serumglycerinbouillon an Schafen an. Die Tiere wurden einmal mit 10, 100 und 200 ccm des Impfstoffs subkutan behandelt und 61 bis 75 Tage nachher zugelassen. Einige Wochen nach der Kohabitation wurden die Schafe mit dem an Abortusbacillen reichen Mageninhalt eines verworfenen Kalbes teils subkutan, teils durch Fütterung infiziert. Die Versuche lieferten jedoch ganz unbefriedigende Ergebnisse, da eines der geimpften Schafe nicht trächtig wurde und von den übrigen immunisierten Schafen einige normal austrugen, die anderen dagegen verwarfen, während ein Kontrollschaf trotz starker intravenöser Injektion virulenten Infektionsmaterials merkwürdigerweise nicht abortierte. Die Versuche an Schafen wurden daher ganz aufgegeben.

Bei den weiteren von der englischen Abortuskommission angestellten Impfungen wurden zwei nichtträchtige Färsen mit je 125 ccm Glycerinserumbouillon-Kultur ein-

mal geimpft. Die eine von ihnen wurde 147 Tage danach gedeckt und nach 40tägiger Trächtigkeit mit 10 ccm einer Emulsion von Abortusexsudat intravenös infiziert. 112 Tage nach der Ansteckung wurde sie geschlachtet, wobei in der Gebärmutter weder Exsudat noch Bacillen nachgewiesen werden konnten. Die andere Färse wurde 106 Tage nach der Immunisierung belegt und 66 Tage später mit der zerteilten Nachgeburt von einem Abortusfall gefüttert. Außerdem wurde sie noch mit 200 ccm Abschwemmung des Exsudats einer Nachgeburt intravaginal und mit 10 ccm Emulsion von Uterusexsudat intravenös infiziert. 110 Tage nach der künstlichen Ansteckung wurde die Färse geschlachtet. Trotz genauester Untersuchung der geschlachteten Färse konnte eine Spur einer Abortusinfektion ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

Endlich wurden von der englischen Abortuskommission einige Versuche in der Weise vorgenommen, daß trächtige Färsen, die durch intravenöse Injektion und Fütterung künstlich angesteckt worden waren, wiederholt mit großen Mengen einer durch Erhitzung abgetöteten Abortuskultur subkutan behandelt wurden. Von 3 nach diesem Verfahren geimpften Färsen, denen im ganzen 700 bis 1350 ccm abgetöteter Abortuskultur verabreicht worden waren, abortierte eine mit 1350 ccm Impfstoff behandelte Färse 123 Tage nach der Ansteckung. Die beiden andern, später geschlachteten Färsen erwiesen sich als völlig gesund. Daraus geht hervor, daß die Behandlung mit abgetöteter Kultur auch bei bereits infizierten Tieren einen günstigen Einfluß ausübt.

Über die Ergebnisse der weiteren von der englischen Abortuskommission in Aussicht genommenen Immunisierungsversuche konnte bis jetzt Näheres nicht in Erfahrung gebracht werden.

In Deutschland hat Piorkowski im Jahre 1910 aus Kulturen des Abortusbacillus einen Impfstoff hergestellt, der nach wiederholter Anwendung bei trächtigen Kühen das Verkalben verhindern soll. Hesse will durch mehrmalige Impfung mit diesem Impfstoff in einem Bestande sehr gute Ergebnisse erzielt haben. In einem andern Bestand, in dem die Tiere nur einmal mit dem Impfstoff behandelt worden waren, verkalbten 6 von 13 Rindern. Der Impfstoff rief bei den geimpften Tieren zuweilen eine starke Reaktion hervor, die sich hauptsächlich durch Versagen des Futters, Tympanitis und Herzschwäche kennzeichnete. Über die weitere Anwendung des Impfstoffs ist bis jetzt nichts mehr bekannt geworden. Dagegen ist im Laufe der letzten Jahre über die Wirkung verschiedener Impfstoffe, die von einer Reihe von Seruminstituten in den Verkehr gebracht werden, teils günstig, teils weniger günstig berichtet worden.

Schreiber ist der Ansicht, daß das von dem Schreiberschen Seruminstitut hergestellte Abortin in allen Fällen, wo es sich um eine Infektion mit dem Bangschen Abortusbacillus und nicht um eine Mischinfektion handelt, von durchaus zuverlässiger Wirkung sei.

Dalkiewicz, der sowohl mit dem von Reisinger hergestellten, als auch mit dem Schreiberschen Impfstoff Versuche in verschiedenen Rindviehbeständen Galiziens angestellt hat und gute, wenn auch nicht ganz befriedigende Erfolge verzeichnen konnte, sieht in der Abortusimpfung ein Mittel, mit dem man das Verwerfen wenigstens beschränken kann.

Bei den besprochenen Impfungen gegen das ansteckende Verkalben handelt es sich durchweg um eine aktive Immunisierung von Tieren. Der sehr naheliegende Gedanke, Tiere, die mit dem Leiden behaftet oder der Ansteckung verdächtig sind, durch eine passive Immunisierung mit Serum gegen das Verkalben zu schützen, wurde zuerst von Nielsen aufgegriffen. Er verwendete zur Impfung das Blutserum von Kühen, die 2 oder 3 mal verworfen und dann normal gekalbt hatten. Die Menge des Serums betrug 80—100 ccm. In einem Rindviehbestande, in dem das ansteckende Verkalben herrschte, impfte er 15 Färsen und ließ 7 unbehandelt. Von den ersteren abortierten 1, von den letzteren 3. Spätere Versuche lieferten keine guten Ergebnisse. Die Aussichtslosigkeit solcher Impfungen, die nur eine kurzfristige, passive Immunität bewirken, wird von verschiedenen Seiten bestätigt.

In einer Arbeit von K. Büchli aus dem holländischen Reichsseruminstitut ist ein Immunisierungsverfahren empfohlen worden, das darin besteht, daß trächtige Tiere in 3 Zeitabschnitten der Trächtigkeit insgesamt 5 mal geimpft werden. Die Tiere erhalten im 3.—4. Monat der Trächtigkeit bei der ersten Impfung 10 ccm Kultur und bei der 3 Wochen später stattfindenden zweiten Impfung 20 ccm Kultur. Bei der 3. und 4. Impfung, die im 5.—7. Monat der Trächtigkeit erfolgt, werden die Tiere zuerst mit 10 ccm Kultur + 20 ccm Serum und nach 3 Wochen mit 20 ccm Kultur + 20 ccm Serum behandelt. Im 3. Zeitabschnitt, in der Zeit vor und nach dem 7. Monat, werden 100 ccm Serum eingespritzt.

Ein völlig befriedigendes Ergebnis hat auch diese Methode nicht gezeitigt.

Die in der Literatur vorliegenden Angaben über die aktive und passive Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben zeigen demnach, daß die bisherigen Versuche keine allgemein befriedigenden Ergebnisse geliefert haben.

Die Eigenart des Leidens und die verschiedenen Formen, in denen es zum Ausdruck kommt, bringen es mit sich, daß die Beurteilung des wirklichen Wertes von Impfungen gegen das ansteckende Verkalben, die ganz vom Trächtigwerden der Tiere abhängt und sich auf mehrjährige Beobachtungen der geimpften Rindviehbestände stützen muß, mit großen Schwierigkeiten verbunden ist. Aus diesem Grunde sind die gerade in neuerer Zeit auftauchenden Berichte über günstige Erfahrungen mit den verschiedensten gegen den infektiösen Abortus angewandten Impfstoffen mit größter Vorsicht aufzunehmen. Mit vollem Recht kann gesagt werden, daß ein geeignetes, völlig befriedigendes Impfverfahren gegen das ansteckende Verkalben bis jetzt nicht bekannt geworden ist.

III. Eigene Untersuchungen.

Durch die Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob und in welcher Weise das ansteckende Verkalben durch eine aktive oder passive Immunisierung erfolgreich bekämpft werden kann. Das Bestreben war dabei in erster Linie darauf gerichtet, ein möglichst einfaches, in der Praxis leicht anwendbares Impfverfahren gegen das ansteckende Verkalben zu ermitteln.

Die Impfversuche wurden teils vom Gesundheitsamt selbst, teils von beamteten und praktischen Tierärzten ausgeführt, denen die nötigen Impfstoffe vom Gesundheitsamt zur Verfügung gestellt wurden.

Tabelle I.

Stand des ansteckenden Verkalbens

in dem Viehbestand des: *Herrn J. M.* **in** *E.*, **Kreis:** *N.*, **Bundesstaat:** *Preußen*
am *26. 5. 1913.*

Zahl der Kühe: *15*; **Zahl der Färsen:** *9*; **Zahl der Bullen:** *1.*

Von den Kühen und Färsen sind trächtig . . . . *18 (11 Kühe und 7 Färsen)*
" " " " " haben verkalbt . . . *8 (1 Kuh verkauft)*
" " " " " haben normal gekalbt . *10*

Sind Kühe, Färsen oder Bullen in letzter Zeit, und welche und wann, neu in den Bestand eingestellt worden?

Verzeichnis der Kühe und Färsen.

Nummer (Bezeichnung) des Tieres und Alter	Wann zuletzt besprungen?	Sollte kalben am:	Hat gekalbt am:	Hat verkalbt am:	War gedeckt von welchem Bullen?	Hat früher zum 1. Mal verkalbt am	Hat früher zum 2. Mal verkalbt am	Ist behandelt worden mit:	Bemerkungen über den Abgang der Nachgeburt, die Dauer einer etwaigen Behandlung, die Zeit des Bestehens des Ausflusses, die Zulassung zum Bullen und Umrindern. Ferner über die Entwicklung der Kälber, Kälberkrankheiten und etwa stattgefundene Desinfektion des Stalles.
Färse Nr. 64 ($1^1/_2$ J. a.)	27. 3. 13	—	—	—	Vom eigenen Bullen			Bei den Tieren, die verkalbt hatten, sind Gebärmutterspülungen mit Lysollösung vorgenommen worden. Außerdem sind alle Tiere mit Bissulin gegen den ansteckenden Scheidenkatarrh behandelt worden.	Der Abgang der Nachgeburt erfolgte meistens 8 Tage nach der Geburt, zuweilen noch später. Bei den Tieren, die verkalbt hatten, blieb die Nachgeburt regelmäßig zurück und mußte in einigen Fällen künstlich gelöst werden. Der Ausfluß dauerte vier bis fünf Wochen. Die Zulassung zum Bullen war verschieden. Meistens rinderten die Kühe schon 14 Tage nach dem Kalben oder nach dem Verwerfen und wurden dann auch gleich zugelassen. Vielfach nahmen sie jedoch nicht gleich auf, sondern rinderten oft um. Die ausgetragenen Kälber waren normal entwickelt, erkrankten aber zum Teil an Durchfall. Der Stall wird öfters mit Kreolin desinfiziert.
" " 71 ($1^1/_2$ " ")	4. 4. 13	—	—	—					
" " 68 ($1^3/_4$ " ")	14. 4. 13	—	—	—					
" " 69 ($1^1/_2$ " ")	5. 5. 13	—	—	—					
" " 73 ($1^1/_4$ " ")	—	—	—	—					
" " 83 (2 " ")	15. 8. 12	—	—	17. 3. 13					
" " 74 ($1^1/_2$ " ")	5. 5. 13	—	—	—					
" " 63 ($1^3/_4$ " ")	5. 5. 13	10. 5. 13	—	8. 3. 13					
" " 85 ($1^3/_4$ " ")	11. 2. 13	—	—	—					
Kuh Agnes (3 " ")	20. 9. 12	—	—	3. 5. 13		ist verkauft worden			
" Alta (3 " ")	18. 8. 12	—	—	20. 4. 13					
" Alma (3 " ")	18. 2. 12, wieder gedeckt: 5. 3. 13	—	—	24. 10. 12					
" Antonie (3 " ")	25. 2. 12, wieder gedeckt: 5. 2. 13	—	27. 11. 12	—					
" Hulda (5 " ")	25. 3. 12, wieder gedeckt: 25. 2. 13	—	—	10. 12. 12					
" Blume (4 " ")	10. 3. 12, wieder gedeckt: 3. 4. 13	—	14. 12. 12	—					
" Else (5 " ")	2. 4. 12, wieder gedeckt: 19. 4. 13	—	5. 1. 13	—					
" Paula (6 " ")	20. 4. 12, wieder gedeckt: 1. 5. 13	—	24. 1. 13	—					
" Lotte (6 " ")	22. 4. 12, wieder gedeckt: 29. 3. 13	—	26. 1. 13	—					
" Horta (6 " ")	28. 4. 12	—	—	14. 1. 13					
" Irma (5 " ")	29. 4. 12, wieder gedeckt: 4. 5. 13	—	30. 1. 13	—					
" Herta (4 " ")	8. 5. 12, wieder gedeckt: 3. 5. 13	—	10. 2. 13	—					
" Frieda (5 " ")	28. 5. 12	—	1. 3. 13	—					
" Rosa (7 " ")	24. 5. 12, wieder gedeckt: 5. 5. 13	—	—	20. 1. 3					
" Emma (5 " ")	20 12. 12	—	—	—					
" Anna (4 " ")	20. 6. 12	—	24. 3. 13	—					

Vor Einleitung des Impfverfahrens in einem Rindviehbestande wurde zur Feststellung, ob unter den Tieren in der Tat das ansteckende Verkalben herrscht, eine serologische Untersuchung von Blutproben verdächtiger Kühe und die bakteriologische Untersuchung abortierter Kälber vorgenommen.

Einleitung des Impfverfahrens.

War das Vorliegen von ansteckendem Verkalben in einem Viehbestande erwiesen, so wurden nähere Erhebungen über den Stand der Seuche angestellt. Dies geschah in der Weise, daß der Besitzer genaue Angaben über die Zusammensetzung seines Viehbestandes, das Alter der einzelnen Tiere, den Zeitpunkt des Deckens, Namen und Alter des Bullen, sowie Angaben über Umrindern, Nichtaufnehmen und Zurückhalten der Nachgeburt in eine ihm übersandte Bestandliste eintrug, auf der Kühe, die ein- und mehrmal verkalbt hatten, besonders bezeichnet wurden. Ferner wurde über die Kälberaufzucht und etwa beobachtete Krankheiten der Kälber sowie über früher erfolgte Maßnahmen zur Bekämpfung des ansteckenden Verkalbens kurz berichtet.

Auf Grund der Bestandsliste, die in vorstehender Tabelle I (Seite 380) wiedergegeben ist, wurde alsdann der Viehbestand zur Verteilung der Impfstoffe auf die einzelnen Tiere und besseren Beurteilung der später festgestellten Impfergebnisse in mehrere Gruppen geschieden.

Diese Einteilung in Gruppen war folgende:

1. Anzahl der Kälber,
2. Anzahl der nichtträchtigen Färsen,
3. Anzahl der nichtträchtigen Kühe,
4. Anzahl der nichtträchtigen Kühe, die mit seuchenhaftem Abortus infiziert, einmal verkalbt haben,
5. Anzahl der trächtigen Färsen:
   a) im 1.—3. Monat der Trächtigkeit,
   b) im 4—6. Monat der Trächtigkeit,
   c) im 7.—9. Monat der Trächtigkeit,
6. Anzahl der trächtigen Kühe:
   a) im 1.—3. Monat der Trächtigkeit,
   b) im 4.—6. Monat der Trächtigkeit,
   c) im 7.—9. Monat der Trächtigkeit.

An Hand dieser Aufstellung erfolgte sodann die Verteilung der verschiedenen Impfstoffe auf die einzelnen Tiere der betreffenden Gruppen in der Weise, daß Kälber im allgemeinen unbehandelt blieben und von den Gruppen 2, 3 und 4 sowie von den Untergruppen 5a, 5b, 5c usw. jeweils die eine Hälfte mit Abortusimpfstoff geimpft wurde, während die andere Hälfte entweder unbehandelt blieb oder einen Kontrollimpfstoff (sterile Bouillon) eingespritzt erhielt.

Am besten ist die Gruppierung der Tiere und die Verteilung der Impfstoffe aus dem nachfolgenden Schema (Tabelle II) zu ersehen, das die wirkliche Unterlage einer Impfung darstellt.

Tabelle II.

Abortusimpfung in dem Viehbestande P.—M.

am 6. 11. 14.

Gruppe	Anzahl	Tiere (Alter)	Impfstoff
1. Nichtträchtige Kühe und Färsen.	10 Tiere:	Elly 5, Hermine 2, Hildegard 2, Helene 2, Thusnelde 10	Impfstoff A (abgetötete Kultur)
		Hertha 2, Hulda 2, Gerda 3, Hilda 2, Henny 2	Kontroll-impfstoff B
2. Nichtträchtige Kühe, die ein- und mehrmal verkalbt haben.	6 Tiere:	Brigitte 8, Janna 11, Emmy 5	Impfstoff C (lebend. Kultur)
		Thea 10, Dorothea 6, Trude 10	Kontroll-impfstoff B
3. Im 1. bis 3. Monat der Trächtigkeit.	8 Tiere:	Hansa 2, Tina 10, Fanny 4, Betty 8	Impfstoff A (abgetötete Kultur)
		Distel 6, Tilda 10, Guste 3, Nina 14	Impfstoff B
4. Im 4. bis 6. Monat der Trächtigkeit.	4 Tiere:	Selma 11, Dattel 6	Impfstoff A
		Friedericke 4, Blondine 8	Impfstoff B
5. Im 7. bis 9. Monat der Trächtigkeit.	20 Tiere:	Elsa 5, Erna 5, Hedwig 2, Henriette 2, Hella 2, Edith 5, Erika 5, Amalie 7, Gertrud 3	Impfstoff A + S
		Großmutter 6, Gerti 3, Ricke 9, Hagedorn 2, Grete 3, Auguste 7, Frieda 4, Goldmädel 3, Elise 5	Impfstoff B

Die Zahlen unter den einzelnen Namen bedeuten das Alter der Tiere in Jahren. Hat eine Kuh ein-, zwei- oder dreimal verkalbt, so ist dies durch einmalige oder mehrmalige Unterstreichung des Namens zum Ausdruck gebracht. Eine derartige Aufstellung enthält somit auch die wichtigsten Angaben, die für die spätere Beurteilung der Impfergebnisse von Bedeutung sind.

Die Herstellung der verschiedenen Impfstoffe.

Bei den Impfungen wurden lebende und abgetötete Abortuskulturen und Abortusimmunserum als Impfstoffe verwendet.

Lebende Abortuskultur, als Impfstoff C bezeichnet, wurde in einer Menge von 10 ccm subkutan verimpft. Mit Ausnahme von 3 Beständen, in denen 10 ccm einer 4 Wochen alten englischen Abortuskultur verwendet worden sind, wurde als Impfstoff C durchweg eine Bakterienemulsion von gleicher Beschaffenheit benutzt. Der Impfstoff, der bei jeder Impfung frisch bereitet wurde, bestand aus einer Abschwemmung von zwei 8 Tage alten, gut gewachsenen Agarkulturen mit je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Der Impfstoff wurde nach der Abfüllung in braune 10 ccm Fläschchen durch Beimpfen von Agarröhrchen auf Reinheit geprüft und mit Korken und Paraffin verschlossen.

Abgetötete Abortuskultur, als Impfstoff A und Aa bezeichnet, wurde auf verschiedene Weise hergestellt und auch in verschiedenen Mengen und Konzentrationen verwendet. Zu Beginn der Versuche wurde ein Impfstoff A in Mengen von 30 ccm verimpft, der in der Weise hergestellt wurde, daß Kolben, die 300 ccm englische Abortusbouillon (mit Zusatz von Amnionflüssigkeit) enthielten, mit je 1 Öse Agarkultur von 5 verschiedenen Abortusstämmen beimpft und nach 3 Wochen langem Wachstum durch mindestens 2 Stunden langes Erwärmen auf 55° C im Wasserbad abgetötet wurden. Vor dem Abtöten wurden die Kolben durch mikroskopische Untersuchung und Beimpfung von Agarröhrchen auf Reinheit und nach der Abtötung und Abfüllung in braune Medizinfläschchen (von 30 ccm Inhalt) in gleicher Weise auf Sterilität geprüft. Die Versandfläschchen wurden alsdann mit Korken und Paraffin verschlossen.

Später wurde ein Impfstoff Aa in Mengen von 30 ccm subkutan angewandt. Zur Bereitung dieses Impfstoffs wurden 6 gut gewachsene 48stündige Agarkulturen mit 100 ccm Bouillon abgeschwemmt, dann in der beschriebenen Art auf Reinheit untersucht, abgetötet, abgefüllt, auf Sterilität geprüft und verschlossen.

Im weiteren Verlauf der Versuche wurde ein Impfstoff A in einer Menge von 100 ccm subkutan verimpft. Dieser Impfstoff bestand aus 14 Tage alten Bouillonkulturen, die in der üblichen Weise abgetötet und gebrauchsfertig gemacht wurden.

Ganz ähnlich wurden späterhin der gleichfalls subkutan verabreichte Impfstoff A in Dosen von 25 ccm und endlich der Impfstoff A in Dosen von 50 ccm hergestellt, nur mit dem Unterschied, daß bei ersterem 1 Kolleschale, die etwa 12 Agarkulturen entspricht, und bei letzterem 2 Kolleschalen mit 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt wurden.

Hochwertiges Abortus-Immunserum vom Pferd und Rind wurde in einigen Fällen in einer Menge von 100 ccm und für sich allein, intravenös zur passiven Immunisierung von hochtragenden Kühen verwendet.

Das durch künstliche Immunisierung mit Abortusbacillen gewonnene Serum hatte einen Agglutinationstiter von 1 : 10000 bis 1 : 40000 und die Eigenschaft, in einer Menge von 0,005—0,001 Komplement zu binden. Es besaß kleinen Versuchs-

tieren gegenüber eine ausgesprochene Schutzwirkung. Eine Menge von 0,5 ccm Serum subkutan verabreicht, genügte, um eine weiße Ratte, die eine Stunde vor der Serumschutzimpfung mit der tödlichen Dosis von 1 ccm = $^1/_2$ Agarkultur (+ 1 ccm 0,85% Kochsalzlösung) eines virulenten Abortusstammes intraperitoneal geimpft worden war, am Leben zu erhalten.

Lebende Abortusbacillen + Immunserum = Impfstoff C + S (10 ccm Kultur + 100 ccm Immunserum) wurde in einer größeren Anzahl von Beständen verwendet. Die beiden Impfstoffe wurden teils unmittelbar vor der Impfung vermischt, teils getrennt und stets subkutan einverleibt.

Der Impfstoff C war der gleiche, wie der oben beschriebene. Der Impfstoff S war dasselbe Immunserum, das in Fällen einer passiven Immunisierung für sich allein angewandt wurde.

Abgetötete Abortuskultur + Immunserum = Impfstoff A + S (30 ccm abgetötete Kultur + 100 ccm Immunserum). Der Impfstoff A bestand in allen Fällen aus 30 ccm abgetöteter Bouillonkultur. Der Impfstoff S war Immunserum mit den oben erwähnten Eigenschaften. Beide Impfstoffe wurden stets getrennt und subkutan eingespritzt.

Abgeschwächte Abortuskultur, als Impfstoff Ca bezeichnet, wurde in der Weise hergestellt, daß eine gut gewachsene, mehrere Tage alte Agarkultur und zwar eine Kollesche Schale mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und durch $2^1/_2$stündiges Verweilen im Wasserbad bei 50° C abgeschwächt wurde. Die Versuche haben ergeben, daß die Abortusbacillen dabei in ihrer Keimfähigkeit so stark beeinträchtigt werden, daß auf Schrägagar, der mit 1 Öse der abgeschwächten Kultur beschickt wird, nur noch wenig Kolonien wachsen. Die Dosierung der Impfstoffe betrug 25 ccm, d. h. die Hälfte der Abschwemmung von einer Kolleschale mit 50 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Die Abschwächung der Kultur erfolgte nach der Abfüllung in die Versandfläschchen, die nach der Prüfung auf Reinheit mit Korken und Paraffin verschlossen wurden.

Gewöhnliche, sterile Peptonbouillon, als Impfstoff B bezeichnet, diente in Mengen von 30 ccm zur Impfung der Kontrolltiere. Die Bouillon wurde wie die Abortusimpfstoffe in kleine Medizinfläschchen gefüllt und mit Paraffin verschlossen.

Die Anwendung der verschiedenen Impfstoffe.

Mit Ausnahme der wenigen Fälle, in denen Immunserum zur passiven Immunisierung hochträchtigen Kühen intravenös eingespritzt wurde, erfolgte die Verabreichung der Impfstoffe, wie schon bei der Beschreibung ihrer Herstellung erwähnt wurde, auf subkutanem Wege. Die subkutane Einverleibung der Impfstoffe wurde der intravenösen Einspritzung vorgezogen, weil sie einfacher und in größeren Beständen leichter und rascher durchzuführen war. Außerdem wären bei der intravenösen Einspritzung so großer Mengen körperfremden Eiweißes, wie sie unsere Impfstoffe enthielten, doch mitunter schwere anaphylaktische Erscheinungen bei den Tieren zu erwarten gewesen. In allen Fällen wurden frische Impfstoffe zur Immunisierung verwendet. Nur das zur Impfung benutzte Immunserum war öfters älter, wurde jedoch vor der Abgabe jedesmal auf seine immunisierenden Eigenschaften geprüft. Es war im übrigen durch Zusatz

von 0,5% Karbolsäure haltbar gemacht. Von einer Versetzung der aus abgetöteter Abortuskultur bestehenden Impfstoffe mit konservierenden Mitteln wurde Abstand genommen.

Die Anwendung der einzelnen Impfstoffe und die bei den Versuchen verfolgten Ziele sind im Nachstehenden des Näheren ausgeführt.

1. Lebende Abortuskulturen. Die Impfung mit lebender Kultur war nur für nichtträchtige Kühe und Färsen bestimmt. Mit lebender Kultur, gegen deren Anwendung in bereits verseuchten Beständen irgendwelche Bedenken nicht bestanden, sollten hauptsächlich solche nichtträchtige Tiere geimpft werden, die bereits zum ersten Mal verkalbt hatten. In einer größeren Anzahl von Beständen wurden jedoch auch nichtträchtige Tiere, die noch nicht verkalbt hatten, bei denen aber auf Grund der Blutuntersuchung oder sonstiger Anzeichen eine Infektion mit dem Erreger des ansteckenden Verkalbens anzunehmen war, oder bei denen eine erhöhte Ansteckungsgefahr bestand, mit dem Impfstoff C geimpft.

Die Versuche hatten mithin den doppelten Zweck, festzustellen, ob das Zustandekommen der Immunität gegen das ansteckende Verkalben bei bereits infizierten Tieren durch die Impfung mit lebender Kultur beschleunigt wird, und ferner, ob nichtinfizierte, nichtträchtige Tiere, die in hohem Maße der Ansteckung ausgesetzt waren, durch diese Impfungen wirksam gegen eine Infektion geschützt werden können.

Die Impfung mit lebender Kultur wurde in sämtlichen Fällen nur einmal vorgenommen.

2. Abgetötete Abortuskulturen dienten vorwiegend zur Impfung von trächtigen Tieren. Vielfach wurden aber auch nichtträchtige Kühe und Jungrinder und in einzelnen Beständen auch Kälber mit dem Impfstoff A behandelt. Die Impfungen wurden ohne Ausnahme nach 4—8 Wochen wiederholt.

Bei den Versuchen mit abgetöteter Kultur sollte festgestellt werden, ob und in welchem Maße eine aktive Immunisierung der Tiere durch die Behandlung mit abgetöteter Kultur erreicht werden kann.

3. Lebende Abortuskulturen + Abortusimmunserum, Impfstoff C + S, fand bei trächtigen Kühen und Färsen Verwendung.

Durch die gleichzeitige Verabreichung von Immunserum sollte die pathogene Wirkung der lebenden Abortusbacillen aufgehoben werden, ohne deren immunisierende Wirkung zu hemmen.

4. Abgetötete Abortuskulturen + Abortusimmunserum, Impfstoff A + S, diente ebenfalls zur Impfung von tragenden Tieren und wurde in einer größeren Anzahl von Beständen verwendet.

Die gleichzeitige Impfung der trächtigen Tiere mit abgetöteter Kultur und Immunserum hatte den Zweck, die toxische Wirkung des Impfstoffs A aufzuheben und mit der aktiven Immunisierung eine passive Immunisierung zu verbinden.

5. Abgeschwächte Kulturen sind in einigen infizierten Beständen zur Immunisierung von Kälbern und Jungrindern benutzt worden.

Die Abschwächung der Abortusbacillen bis zur Grenze ihrer Keimfähigkeit wurde vorgenommen, um eine Infektion infolge der Impfung und eine spätere Ausscheidung der Bakterien bei den geimpften Tieren zu verhindern.

Tabelle

Impfungen gegen das

in dem Viehbestande *des Herrn F. v. B. in E.*, **Kreis** *Gr.*,

Tag der Impfung: { *17. 5. 12,* / *2. 7. 12,* } die

Zahl der geimpften	trächtigen Kühe	*23*
„ „ „	nichtträchtigen Kühe	*1*
„ „ „	Färsen	*4*
„ „ „	Tiere, die normal gekalbt haben	*1*
„ „ „	Tiere, die verkalbt haben . . .	*6*

Verzeichnis der geimpften

1	2							3	4	5	6
Nummer (Bezeichnung) des Tieres	Art des Impfstoffes							Etwa beobachtete Schädigungen nach der Impfung	Verlauf der Trächtigkeit	Tag des Kalbens	Hat das Tier normal gekalbt?
	A	Aa	A+S	C	C+S	S	B				
Kuh Nr. 1 (Aggl. Tit. 1 : 20)	*30,0*							*Keine*	*Normal*	*5. 10. 12* *25. 9. 13*	*Normal* „
Kuh Nr. 2 (Aggl. Tit. 1 : 2000)	*30,0*							*Starke Schwellung a. d. Impfstelle*	„	*15. 2. 12* *9. 4. 13*	„ „
Kuh Nr. 3 (Aggl. Tit. 1 : 4000)	*30,0*							„	„		
Kuh Nr. 4 Aggl. Tit. 1 : 1000)	*30,0*							„	„	*31. 12. 11* *23. 11. 12* *12. 11. 13*	*Normal* „ „
Kuh Nr. 5 (Aggl. Tit. 1 : 1000)	*30,0*							„	„	*10. 2. 12* *3. 10. 13*	„ „
Kuh Nr. 6 (Aggl. Tit. 1 : 1000)	*30,0*							*Keine*	„	*9. 10. 13*	
Kuh Nr. 7 (Aggl. Tit. 1 : 40)	*30,0*							„	„		
Kuh Nr. 8 (Aggl. Tit. 1 : 2000)	*30,0*							„	„	*3. 10. 11*	*Normal*
Kuh Nr. 9 (Aggl. Tit. 1 : 1000)	*30,0*							*Starke Schwellung a. d. Impfstelle*	„	*9. 2. 12* *8. 2. 13*	„ „
Kuh Nr. 10 (Aggl. Tit. 1 : 1000)	*30,0*							*Keine*	„	*23. 2. 12* *25. 3. 12*	„ „
Kuh Nr. 11 (Aggl. Tit. 1 : 4000)	*30,0*							„	„		
Kuh Nr. 12 (Aggl. Tit. 1 : 4000)	*30,0*							„	„	*29. 1. 12*	„
Kuh Nr. 13 Aggl. Tit. 1 : 20)	*30,0*							„	„	*24. 2. 12* *2. 2. 13*	„ „
Kuh Nr. 16 (Aggl. Tit. 1 : 2000)	*30,0*							„	„	*12. 10. 11*	„

III.

ansteckende Verkalben

Bundesstaat *Preußen,* **ausgeführt von** *Tierarzt Dr. Z.*

Impfliste ist ausgefüllt worden von *Dr. Z. in S.*

Bemerkung: Die Impfliste wird nach Ausfüllung der Spalten 1—5 möglichst umgehend zurückerbeten.

Zur Ausfüllung der Spalten 4—12 wird die Impfliste später wieder zugesandt werden.

Kühe und Färsen.

7	8	9	10	11	12
Hat das Tier verkalbt?	Um wieviel Zeit hat das Tier zu früh gekalbt?	Wurde das Kalb lebend oder tot geboren?	Ist das Kalb am Leben geblieben?	Zeigte das Kalb nach der Geburt krankhafte Erscheinungen und welche?	Bemerkungen (Falls der Raum nicht reicht, wären weitere Bemerkungen umseitig anzubringen)
		Lebend	*Ja*	*Nein*	*In einem Schreiben vom 20. d. M. teilt der Besitzer mit, daß nach der letzten Impfung der Tiere der Milchertrag sehr stark gesunken sei. Dr. Z. 22. 7. 1912.*
		"	"	"	
		"	"	*Nein Nachgeb. 9 Tg. lang fest*	
		"	"	*Nein*	
29. 1. 12 (vor der Impfung)		"	*Ging 5 Stunden p. p ein*	*Nachgeburt blieb 6 Tage lang fest. Kuh wurde bis 14. 6. 13 häufig gedeckt, nahm ab, nicht auf. Verkauft*	
		"	*Ja*	*Nein*	
		"	"	"	
		"	"	"	
		Kalb lebt, ist schwach, nach 5 Tagen geschlachtet	" *Nachgeburt blieb zurück, allmählich gelöst*		
20. 6. 12		*tot* *Kalb vom 9. 10. 13 ebenfalls tot*	—	—	
17. 9. 11 vor d. Impfung u. 7. 6. 12			*14. 5. 13: Kuh verkauft, nahm nicht mehr auf*		
4. 6. 13					*14. 5. 13: Kuh verkauft, nahm nicht mehr auf.*
		Lebend	*Ja*	*Nein*	*Nachgeburt fest vom 9. 2. bis 17. 2. 12.*
		"	"	"	
		"	"	"	
		"	"	"	
17. 4. 12 vor der Impfung		*Tot*	—	—	*Nachgeburt vom 17. bis 23. 4. 12 fest. Nahm nicht mehr auf. Verk.*
		Lebend	*Ja*	*Nein*	*Verkauft.*
		"	"	"	
		"	"	"	
		"	"	"	*Rinderte öfters, nahm nicht mehr auf. 13. 3. 13: Verkauft.*

Fortsetzung von

1	2							3	4	5	6
Nummer (Bezeichnung) des Tieres	Art des Impfstoffs							Etwa beobachtete Schädigungen nach der Impfung	Verlauf der Trächtigkeit	Tag des Kalbens	Hat das Tier normal gekalbt?
	A	Aa	A+S	C	C+S	S	B				
Kuh Nr. 17 (Aggl. Tit. 1:20000)	*30,0*							*Starke Schwellung a. d. Impfstelle*	*Normal*	*9. 2. 12*	*Normal*
Kuh Nr. 18 (Aggl. Tit. 1:2000)	*30,0*							*Keine*	„	*30. 9. 13*	„
Kuh Nr. 19 (Aggl. Tit. 1:2000)	*30,0*							„	„		
Kuh Nr. 24 (Aggl. Tit. 1:10000)	*30,0*							„	„		
Kuh Nr. 21 (Aggl. Tit. 1:20)							*30,0*	„	„	*9. 12. 11* *9. 4. 13*	„ „
Kuh Nr. 23 (Aggl. Tit. 1:100)							*30,0*	„	„	*24. 3. 12* *15. 4. 13*	„ „
Kuh Nr. 14 (Aggl. Tit. 1:50)							*30,0*	„	„	*29. 2. 12*	„
Kuh Nr. 20 (Aggl. Tit. 1:40)							*30,0*	„	„	*10. 12. 11*	„
Kuh Nr. 22 (Aggl. Tit. 1:20)							*30,0*	„	„	*22. 12. 11* *25. 1. 13*	„ „
Kuh Nr. 15 (Aggl. Tit. 1:40)				*10,0*				„	„	*1. 7. 12*	„
Färse 3 I (Aggl. Tit. 1:200)	*30,0*							„	„		„
Färse 8 I (Aggl. Tit. 1:200)	*30,0*							„	„		
Färse 17 IV							*30,0*	„	„		
Färse 15 V (Aggl. Tit. 1:10000)							*30,0*	„	„		
5 Jungrinder (ohne Nummer)				*je 10,0*				„	„		
Färse 25	*Neu zugekauft; nicht geimpft*							—	—	—	—
Erika 26	*Neu zugekauft, nicht geimpft*							—	„		
Färse Edith 27	„ „ „ „							—	„	*1. 9. 12* *23. 9. 13*	

Fast alle Tiere zeigen Erscheinungen des ansteckenden Scheidenkatarrhs.

Besitzer hat die Kühe Nr. 11 und 12, sowie Nr. 18—23 auf Märkten in Ostpreußen gekauft und glaubt mit ihnen den Abortus in seinen Bestand eingeführt zu haben. Vorher seien Verkalbefälle nicht vorgekommen.

Am 9. 5. 13 hat der Besitzer 20 Färsen (Nr. 30—41 und 43—50) in seinen Bestand neu eingestellt. Von diesen haben verkalbt Nr. 39 am 3. 6. 13 (gedeckt am 4. 12. 12) und Nr. 43 am 15. 6. 13 (gedeckt am 1. 1. 13).

Tabelle III.

7	8	9	10	11	12
Hat das Tier verkalbt?	Um wieviel Zeit hat das Tier zu früh gekalbt?	Wurde das Kalb lebend oder tot geboren?	Ist das Kalb am Leben geblieben?	Zeigte das Kalb nach der Geburt krankhafte Erscheinungen und welche?	Bemerkungen (Falls der Raum nicht reicht, wären weitere Bemerkungen umseitig anzubringen)
20. 12. 12		*Lebend*	*Ja*	*Nein*	*Rinderte öfters, nahm nicht mehr auf. 14. 5. 13 verkauft.*
16. 6. 12		"	"	"	
28. 4. 12 Vor der Impfung		*Tot*	—	—	*Nahm nicht mehr auf. 14. 5. 13 verkauft.*
21. 4. 12 Vor der Impfung		"	—	—	*Verkauft.*
		Lebend	*Ja*	*Nein*	
		"	"	"	
		"	"	"	
		"	"	"	
		"	"	"	*3. 3. 13 verkauft wegen Umrinderns u. Nichtaufnehmens.*
		"	"	"	*14. 5. 13 verkauft. Nahm nicht mehr auf.*
		"	"	"	
		"	"	"	
		"	"	"	*14. 5. 13 verkauft. Nahm nicht mehr auf.*
14. 11. 12		*Tot*			*27. 2. 13 verkauft.*
5. 10. 12		"			*Nachgeburt 5 Tage fest. 24. 10. 12 verkauft.*
18. 11. 13					
					Wurden trächtig verkauft.
—	—	—	—	—	*14. 5. 13 verkauft. Hat vermutlich Weide 1912 verkalbt. War nicht tragend und nahm auch nicht auf.*
30. 7. 12					*22. 10. 12 verkauft.*
		Lebend	*Ja*	*Nein*	
		"			

Unregelmäßig gekalbt (Nachgeburt lange festgeblieben!) haben Nr. 46 am 13. 8. 13 und Nr. 47 am 19. 8. 13. Die Kälber beider Kühe waren gesund.

Die übrigen 16 Färsen haben normal gekalbt.

Die Kühe rindern fast durchweg 3—5, auch 6 mal um.

6. Immunserum. Mit Abortusimmunserum wurden infizierte Kühe im 7.—8. Monat ihrer Trächtigkeit behandelt.

Durch die Versuche sollte festgestellt werden, ob durch die intravenöse Einverleibung größerer Mengen hochwertigen Immunserums der Abortus verhindert werden kann.

7. Sterile Bouillon, die als Impfstoff B bezeichnet, zur Impfung der Kontrolltiere diente, wurde den letzteren nur einmal eingespritzt.

Auf die Impfung der Kontrolltiere mit einem unschädlichen Kontrollimpfstoff konnte bei den Versuchen nicht verzichtet werden, da unbehandelt gebliebene Kontrolltiere vielleicht durch den Besitzer einer nachträglichen Behandlung mit einem der vielen angebotenen Mitteln gegen das ansteckende Verkalben unterzogen worden wären und sie damit den Wert als einwandfreie Kontrolltiere verloren hätten. Die Impfung der Kontrolltiere mit dem Impfstoff B, die im Einvernehmen mit den behandelnden Tierärzten erfolgte, war außerdem für die Nachprüfung der von den Besitzern festgestellten Beobachtungen über etwa aufgetretene Impfschädigungen und über die Wirkungen der verschiedenen Impfstoffe von großem Wert.

Wo es notwendig erschien, wurde später der Besitzer des Viehbestandes über die Natur des Kontrollimpfstoffs B aufgeklärt und, wenn das Versuchsergebnis feststand, die Kontrolltiere selbst mit wirksamem Abortusimpfstoff nachgeimpft.

Die Ausführung der Impfversuche.

Im Anschluß an die Erhebungen über den Stand des ansteckenden Verkalbens in einem Viehbestande wurden die Impfungen der infizierten und nicht infizierten Tiere vorgenommen. Die Wahl der Impfstoffe wurde durch den jeweils festgelegten Versuchsplan und die Trächtigkeitsverhältnisse bei den einzelnen Tieren bestimmt. Die Impfungen erfolgten an Hand eines Impfplanes, wie er in Tabelle II dargestellt ist. In Fällen, wo das Reichsgesundheitsamt die Impfungen nicht selbst ausführen konnte, wurden die Impfstoffe mit einer genauen Anweisung über ihre Verwendung und mit einem Verzeichnis der Tiere dem behandelnden Tierarzt übersandt.

Um über alle für die spätere Beurteilung der Impfungen wichtigen Fragen eine erschöpfende Auskunft zu erhalten, wurde bei jeder Impfung eine Liste angelegt, auf der die Nummern oder Namen sämtlicher Tiere und die Impfstoffe, mit denen sie geimpft worden waren, verzeichnet wurden. In eine besondere Spalte der Liste wurden Angaben über die bei den Tieren nach der Impfung etwa beobachteten Schädigungen eingetragen. Die Impfliste, die nach der Impfung dem Reichsgesundheitsamt zurückzugeben war, wurde von Zeit zu Zeit dem behandelnden Tierarzt wieder zugesandt, der im Einvernehmen mit dem Besitzer des Viehbestandes die Angaben über die Ergebnisse der Impfung einzeichnete. Welcher Art diese Angaben waren, zeigt die in der vorstehenden Tabelle III (Seite 386—389) wiedergegebene Impfliste über die Impfungen im 23. Bestand.

Die Zahlen, die in Spalte 1 jedesmal unter der Bezeichnung der Tiere eingetragen sind, bedeuten den Agglutinationstiter des Serums. Es konnte nicht in jedem Bestand eine durchgehende serologische Untersuchung bei den einzelnen Tieren vorgenommen werden, vielmehr beschränkten sich diese Prüfungen in den meisten Fällen

nur auf das Serum derjenigen Tiere, die verkalbt hatten. Die in den Impflisten enthaltenen Angaben wurden vielfach durch briefliche Mitteilungen der behandelnden Tierärzte oder der Besitzer ergänzt.

IV. Allgemeine Richtlinien zur Beurteilung der Impfergebnisse.

Die Wirkung von Impfstoffen gegen das ansteckende Verkalben richtig zu beurteilen, ist keineswegs einfach. Die Schwierigkeiten, mit denen eine einwandfreie Beurteilung der Impfergebnisse verknüpft ist, sind in der Eigenart des meist ohne sichtbare klinische Erscheinungen verlaufenden Leidens und in dem Umstand begründet, daß der Erfolg einer Immunisierung nicht schon kurze Zeit nach der Impfung festgestellt werden kann, vielmehr öfters noch an eine längere Trächtigkeitsdauer bei den Tieren gebunden ist und im übrigen von der Trächtigkeit selbst und von der Konzeption der Tiere abhängig ist. Die Beurteilung einer Impfung muß sich daher auf eine längere, womöglich sogar auf eine mehrjährige Beobachtung der geimpften Tiere stützen. Die Erlangung zuverlässiger Angaben über die Wirkung der Impfstoffe bei den einzelnen Tieren wird jedoch bei längerer Beobachtung dadurch erschwert, daß in den geimpften Viehbeständen vielfach ein reger Wechsel herrscht. Viele von den geimpften Tieren und namentlich solche, die mehrmals umrindern, werden von den Viehbesitzern verkauft oder nicht mehr dem Bullen zugeführt und gemästet und andere Tiere, mitunter sogar neue Träger des Ansteckungsstoffes, werden für die ausgemerzten zur Zucht eingestellt. Der häufige Wechsel im Viehbestand bringt es wiederum mit sich, daß gerade über wichtige Punkte, so z. B. über die Dauer der Immunität, die doch eine Hauptfrage bei jeder Immunisierung darstellt, sich kein vollständiges Bild gewinnen läßt.

Abgesehen von der Tatsache, daß das ansteckende Verkalben sich nicht immer in einer vorzeitigen Ausstoßung der Frucht zu äußern braucht, sondern auch lediglich in Umrindern, Nichtaufnehmen und Zurückbleiben der Nachgeburt zum Ausdruck kommen kann, wird der Haupterfolg und das Ziel jeder Bekämpfungsmethode das Verhüten der Abortusfälle sein.

Man darf jedoch bei seinem Urteil über die Wirkung eines Impfstoffs nicht allein das Ergebnis der Impfung bei einzelnen Tieren zu verwerten suchen, sondern muß immer auch die Wirkung der Impfung in ganzen Beständen ins Auge fassen. Ferner müssen dabei alle Einzelheiten berücksichtigt werden, die für sich allein schon eine Zu- oder Abnahme der Abortusfälle in einem Bestand bedingen können. Beachtenswert sind in dieser Hinsicht alle epidemiologisch wichtigen Fragen und namentlich die Fragen, die eine Ausmerzung von geimpften Tieren und die Neueinstellung von männlichen und weiblichen Zuchttieren, sowie die Aufstallung der Tiere, die hygienischen Stallverhältnisse und allgemeine prophylaktische Maßnahmen zur Bekämpfung der Krankheit betreffen.

Als sehr gut würde der Erfolg einer Impfung gegen das ansteckende Verkalben dann zu bezeichnen sein, wenn nach der Impfung in einem Bestande neue Abortusfälle nicht mehr vorkommen würden. Ein solches Ergebnis dürfte aber selbst bei der Anwendung von ganz wirksamen Impfstoffen zu den Seltenheiten gehören, weil

sich in einem infizierten Bestande bei der Einleitung des Impfverfahrens fast immer trächtige Tiere finden werden, bei denen die Infektion und die Veränderungen an der Plazenta bereits so weit vorgeschritten sind, daß sie trotz der Impfung verwerfen.

Um bei der Feststellung der Impfergebnisse und bei der Beurteilung des Wertes der verschiedenen Impfstoffe einigermaßen sichere Anhaltspunkte zu erhalten, haben wir unsere Versuche in der Weise angestellt, daß wir in den einzelnen Beständen nur die Hälfte der Tiere mit Abortusimpfstoff impften, während die andere Hälfte unbehandelt blieb oder mit einem unwirksamen Kontrollimpfstoff geimpft wurde. Aber auch bei dieser Art der Versuchsanstellung liefern die Impfungen nicht immer eindeutige Ergebnisse. Man hat vielmehr bei der Feststellung der Impfergebnisse in einem Bestand mit verschiedenen Möglichkeiten zu rechnen, die im folgenden kurz besprochen werden.

Bei den Impfversuchen kann:

1. der Fall eintreten, daß das seuchenhafte Verwerfen nach wie vor und in gleichem Maße sowohl unter den mit Abortusimpfstoff behandelten Tieren, als auch unter den Kontrolltieren weiter fortbesteht.

2. kann es vorkommen, daß bei den mit Abortus-Impfstoffen behandelten Tieren das Verwerfen seltener oder gar nicht mehr beobachtet wird, während bei den Kontrolltieren die Zahl der Abortusfälle etwa die gleiche bleibt, wie vor der Impfung.

3. ist es möglich, daß die Zahl der Abortusfälle bei den mit Abortusimpfstoffen behandelten Tieren und bei den Kontrolltieren gleichmäßig abnimmt.

4. kann es vorkommen, daß bei den mit Abortusimpfstoffen behandelten Tieren die Abortusfälle häufiger werden, während bei den Kontrolltieren das Verwerfen seltener zu beobachten ist.

Und endlich kann sich

5. der Fall ereignen, daß bei den mit Abortusimpfstoff behandelten Tieren und bei den Kontrolltieren neue Abortusfälle nicht mehr auftreten, das Verwerfen also im ganzen Bestande spontan aufhört.

Hatten die Impfungen ein Ergebnis wie im ersten Falle zur Folge, so ist daraus mit Sicherheit zu schließen, daß die Impfstoffe keine immunisierende Wirkung entfaltet haben.

Das Ergebnis im zweiten Fall läßt, eine richtige Versuchsordnung vorausgesetzt, auf eine teilweise oder volle Wirksamkeit der Impfstoffe dann schließen, wenn dieses Ergebnis nicht nur bei den Impfungen in einem Bestand, sondern in mehreren oder allen Beständen festgestellt werden kann und nicht auf irgendwelchen Zufällen beruht.

Ein Ergebnis wie im dritten Fall ist immer als ein zweifelhaftes anzusehen, weil es wahrscheinlich nicht auf die Impfung, sondern auf andere Ursachen zurückzuführen ist.

Ein Ergebnis, wie es im vierten Fall erwähnt wurde, wo bei den mit Abortusimpfstoff geimpften Tieren die Abortusfälle häufiger sind als bei den Kontrolltieren, kann, sofern andere Ursachen nicht in Betracht kommen, nur bei einer Impfung mit lebenden Abortusbacillen eintreten, da die Impfungen mit abgetöteter Kultur nach

den bisherigen Erfahrungen kein Verwerfen verursachen. Daraus ist aber nicht etwa der Schluß zu ziehen, daß lebende Abortusbacillen zur Immunisierung ungeeignet sind, wohl aber der, daß sie falsch angewandt worden waren. Solche Ergebnisse sind bei einzelnen Tieren keineswegs selten und kommen überall da vor, wo Tiere nach der Impfung mit lebenden Bacillen zu früh zum Bullen geführt, oder Tiere als nichtträchtig mit lebender Kultur geimpft werden und sich später als trächtig erweisen.

Die größte Vorsicht erfordert die Beurteilung eines Versuchsergebnisses, wie es als fünfter Fall angeführt worden ist.

Ein spontanes Aufhören des Verkalbens in geimpften Viehbeständen ist nicht selten, und man sieht sich dann vor die Beantwortung der Frage gestellt, ob diese Erscheinung teilweise oder ganz auf die Wirkung der Impfstoffe zurückzuführen oder durch andere Ursachen bedingt ist.

Das plötzliche Aufhören des ansteckenden Verkalbens in einem Viehbestande ist als eine zufällige Erscheinung wenig beobachtet worden und ist deshalb auch noch nicht richtig geklärt. Es kann vorkommen, daß Tiere, die einmal verkalbt haben, während der nächsten Trächtigkeitsperioden normal austragen. Das Verwerfen hört dann vorübergehend auf. Später verkalben jedoch die Tiere zum zweiten, ausnahmsweise auch zum dritten Mal und sind hernach immun. Es ist nichts Näheres darüber bekannt, ob es sich in einem solchen Fall nur um ein vorübergehendes Aussetzen des Verwerfens oder in ungeimpften Beständen um eine kurzfristige natürliche, in geimpften, um eine kurzfristige künstliche Immunität der Tiere handelt.

Das plötzliche Aufhören des seuchenhaften Verkalbens kann aber auch von Dauer sein und läßt dann wiederum verschiedene Erklärungen zu:

Einmal kann das Aufhören des Verwerfens dadurch bedingt sein, daß die Infektionsquellen verschlossen und deshalb bei gleichzeitigem Fehlen anderer Infektionsmöglichkeiten neue Tiere nicht mehr angesteckt werden. Die Beseitigung der Infektionsmöglichkeiten kann dabei eine ganz ungewollte sein und lediglich in einer zufälligen Abschaffung infizierter und ansteckungsverdächtiger Rinder bestehen. Sie kann aber auch in der erfolgreichen Durchführung hygienischer Maßnahmen ihre Ursache haben.

Zum anderen muß bei dem eigenartigen Verlauf des Leidens in manchen kleineren Viehbeständen auch an die Möglichkeit gedacht werden, daß vielleicht eine geringe Virulenz des Ansteckungsstoffes die Ursache des spontanen Aufhörens des Verkalbens sein oder ein solches vortäuschen kann. Bisweilen kann man nämlich auch in nichtgeimpften, infizierten Beständen, ohne daß diese durchseucht oder natürlich immunisiert wären, eigentliche Abortusfälle nicht mehr beobachten. Trächtige Tiere sieht man in solchen Beständen einige Tage zu früh schwächliche, aber lebende Kälber zur Welt bringen und die Infektion im übrigen im Festhalten der Nachgeburt sowie im Umrindern und Nichtaufnehmen der Tiere sich äußern.

Ferner kann infolge gänzlicher Durchseuchung eines Viehbestandes das Verkalben bei den Tieren dauernd aufhören. Solche Fälle sind selten und nur in Beständen möglich, die sich aus eigener Zucht ergänzen und

keine Neueinstellungen von Tieren aufweisen. Da die Durchseuchung eines Bestandes längere Zeit beansprucht und mehrere Kalbeperioden umfaßt, so bietet die Dauer der Infektion gewisse Anhaltspunkte dafür, ob der Fall vorliegt oder nicht.

Endlich muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die Wirkung der Impfstoffe die Ursache des plötzlichen Aufhörens des ansteckenden Verkalbens sein kann. Dieses Ergebnis wird namentlich dann zu erwarten sein, wo alle Tiere eines Bestandes mit wirksamen Abortusimpfstoffen behandelt worden waren. Aber auch in Beständen, in denen nur die Hälfte der Tiere mit wirksamem Abortusimpfstoff geimpft wird und die andere Hälfte zur Kontrolle unbehandelt bleibt, kann dieser Fall eintreten, wenn neben den Impfversuchen, von seiten des Besitzers noch allgemeine hygienische und prophylaktische Maßnahmen zur Bekämpfung des ansteckenden Verkalbens angewandt worden sind.

Aus den Ausführungen geht somit hervor, daß es vielfach sehr schwierig ist, die Ergebnisse von Immunisierungsversuchen gegen das ansteckende Verkalben richtig zu deuten und ein zutreffendes Urteil über die Wirksamkeit und den Wert der angewandten Impfstoffe zu gewinnen. Voraussetzung für jede einwandfreie Beurteilung der Impfergebnisse muß stets die Erfüllung der beiden Forderungen bleiben, daß den Ergebnissen ein umfangreiches Untersuchungsmaterial und genaue, auf mehrjährige Beobachtung der geimpften Bestände sich stützende Erhebungen über den Stand des ansteckenden Verkalbens vor und nach der Impfung zu Grunde liegen.

V. Immunisierungsversuche.

Im Nachfolgenden werden die in 80 Rindviehbeständen angestellten Immunisierungsversuche näher beschrieben. Die Ergebnisse der Versuche in den übrigen 43 Beständen können leider nicht in allen Einzelheiten verwertet werden, weil während des Kriegs die Viehbestände ganz erheblich verringert worden sind und aus diesen und anderen Gründen die Erhebungen über die Erfolge dieser Impfungen nicht in allen Fällen vollständig abgeschlossen werden konnten. Immerhin lassen auch die bei diesen Impfversuchen gesammelten Erfahrungen nach verschiedenen Richtungen hin allgemeine Schlußfolgerungen zu, die für die Beurteilung der Gesamtergebnisse ebenfalls von großem Wert sind und deshalb im Zusammenhang mit diesen besprochen werden.

Bei der folgenden Beschreibung der Immunisierungsversuche wird jedesmal die Zusammensetzung des betreffenden Viehbestandes kurz geschildert und gleichzeitig der Impfplan wiedergegeben, nach dem die Impfung vorgenommen wurde. Aus diesem Impfplan ist zu ersehen, in welchem Trächtigkeitsabschnitt die einzelnen Tiere zur Zeit der Impfung gestanden haben, ob und wie oft sie vor oder nach der Impfung verkalbt haben, und mit welchem Impfstoff sie behandelt worden sind.

Von einer Altersangabe der einzelnen Tiere im Impfplan ist abgesehen worden, einmal der Übersichtlichkeit wegen, und zum andern, weil sie nicht von allen Beständen zu erhalten war. Ebenso sind bei den Impfungen mit abgetöteter Kultur

nur die Impfstoffe A und Aa als solche bezeichnet, dagegen ist nicht angegeben worden, ob es sich bei ersterem um abgetötete Abortuskultur in englischer Bouillon oder um gewöhnliche Bouillon handelt oder, ob eine Impfung mit abgetöteter Agarkulturabschwemmung stattgefunden hat. Es wird jedoch, soweit nicht schon aus der Angabe der Menge des Impfstoffs zu ersehen ist, welcher Art der Impfstoff war (vgl. das Kapitel über die Herstellung der Impfstoffe), bei der allgemeinen Besprechung der Impfergebnisse darauf zurückgegriffen werden.

Ist der Name oder die Nummer eines Tieres unterstrichen, so bedeutet dies genau wie im Impfplan in Tabelle II, daß das betreffende Tier verkalbt hat. Ein, zwei oder drei dicke Striche bedeuten ein-, zwei- oder dreimaliges Verkalben vor der Impfung. Abortusfälle, die nach der Impfung bei den Tieren beobachtet worden sind, wurden durch einen dünnen Strich in den Impfplan eingezeichnet.

Am Schluß jeder Beschreibung findet sich eine kurze Zusammenstellung der Impfergebnisse die natürlich im einzelnen Fall keine allgemeinen Schlüsse auf die Wirksamkeit der Impfstoffe erlaubt, vielmehr in ihrer Bedeutung über den Wert der Abortusimpfungen nur im Rahmen der Gesamtergebnisse beurteilt werden darf. Diese werden im Anschluß an die Beschreibung der einzelnen Versuche des Näheren besprochen werden.

1. Bestand.

Der Bestand setzt sich zusammen aus 8 Kühen und 9 Jungrindern. Nach den von dem behandelnden Tierarzt angestellten Ermittlungen haben im Laufe des letzten Jahres einige Kühe verkalbt. Das Verwerfen hörte nach dem Verkauf dieser Tiere auf. Vor 8 Tagen verkalbten jedoch wieder 3 Jungrinder kurz nacheinander. Diese und 3 von den übrigen Jungrindern, die in der nächsten Zeit gedeckt werden sollen, werden deshalb mit lebender Kultur (Impfstoff C = 10 ccm) geimpft. 10 Wochen nach der Impfung werden die Rinder zugelassen.

Die Impfung erfolgte am 20. 2. 11.

Ergebnis: Sämtliche der geimpften Tiere haben normal gekalbt. Verlauf der Trächtigkeit und Abgang der Nachgeburt war ebenfalls normal. Umrindern wurde weder vor noch nach der Impfung bemerkt.

Von den unbehandelt gebliebenen Kontrolltieren verkalbten 1 Kuh und 1 Färse im 8. Monat der Trächtigkeit.

Der behandelnde Tierarzt fordert 1¾ Jahr später weitere Impfstoffe und berichtet, daß auf einem Vorwerk des gleichen Gutes, in einem bisher unverseuchten Stall 6 Kühe im 8. Monat verkalbt hätten. 5 von diesen Kühen seien das zweite Mal und 1 Kuh das erste Mal trächtig gewesen.

Der Bestand setzte sich aus 7 im 1.—3. Monat der Trächtigkeit befindlichen Kühen und aus 2 nichtträchtigen Kühen zusammen. Sämtliche Kühe waren noch unbehandelt. Die Impfstoffe wurden folgendermaßen verteilt:

7 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	2, 3	Impfstoff A + S, 30 + 100
	4, 6	Impfstoff A, 30
	7, 8, 9	Kontrolle B, 30
2 nichtträchtige Kühe	5	Impfstoff C, 10
	1	Kontrolle B, 30

Ergebnis: Kuh Nr. 1 und Kuh Nr. 6 verkalbten im 5. Monat. Bei den übrigen Kühen sind weitere Fälle von seuchenhaftem Verwerfen nicht mehr beobachtet worden.

2. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 55 Tieren zusammen, nämlich aus 7 Kühen, die in den letzten 3 Wochen verkalbt hatten, 5 Kühen, die im 8.—9. Monat trächtig sind, 10 Kühen und 10 Färsen, die im 1.—8. Monat der Trächtigkeit stehen und 23 nichttragenden Kühen und Rindern.

Die Impfung wurde am 25. 7. 11 wie folgt vorgenommen:

5 Kühe im 8.—9. Monat trächtig, erhalten	——	Impfstoff S, 100 ccm intravenös.
7 nichtträchtige Kühe, die verworfen haben, erhalten	——	Impfstoff C, 10 ccm subkutan.
23 nichtträchtige Kühe erhalten	——	Impfstoff C, 10 ccm subkutan.
20 Kühe und Rinder, im 1.—8. Monat der Trächtigkeit stehend	——	bleiben zur Kontrolle ungeimpft.

Ergebnis: Die 5 hochtragenden, mit Ab-Immunserum (S = 100 ccm) behandelten Kühe haben alle kurze Zeit nach der Impfung verkalbt. Die übrigen, mit lebender Kultur geimpften Tiere kalbten alle normal. Von den Kontrolltieren hat eine Kuh im 8. Monat der Trächtigkeit verworfen.

Nach dem zuletzt genannten Fall hat das Verwerfen sowohl bei den geimpften als auch bei den unbehandelt gebliebenen Tieren gänzlich aufgehört.

3. Bestand.

Der Bestand zählt 30 Tiere, von denen 5 Kühe kurz vor der Einleitung der Impfung verkalbt haben. 7 Kühe stehen im 1.—3. Monat, 5 Kühe und 3 Färsen im 3.—7. Monat der Trächtigkeit. Nicht tragend sind 5 Kühe und 10 Färsen.

Die Impfung wurde am 21. 11. 11 in folgender Weise vorgenommen.

7 Kühe im 1.—3. Monat trächtig:	Nr. 34, 15, 20, 3, 1, 2, 19	——	Impfstoff A, 30 ccm
8 Kühe im 3.—7. Monat trächtig:	Nr. 29, 14, 31, 40, 42, 18, 59, 54	——	Impfstoff A, 30 ccm
5 nichtträchtige Kühe:	Nr. 51, 45, 55, 47, 40	——	Impfstoff A, 30 ccm

10 nichttragende Färsen bleiben zur Kontrolle ungeimpft.

Ergebnis: Von den mit abgetöteter Kultur geimpften Tieren kalbten 2 Kühe, Nr. 29 und 47, die schon vor der Impfung einmal verworfen hatten, 19 und 85 Tage zu früh. Die Kälber waren tot.

Von den Kontrolltieren, die wie die anderen nichtträchtigen Kühe gut aufgenommen hatten, verkalbten 3 Färsen im 8. Monat der Trächtigkeit.

Am 21. 12. 11 wurden in dem gleichen Bestand 14 neu zugekaufte Kühe geimpft. Unter diesen waren 7 Kühe im 3.—8. Monat trächtig, während 4 Kühe bereits abgekalbt und 3 weitere Kühe verworfen hatten.

Sämtliche 14 Kühe wurden mit Impfstoff A = 30 ccm geimpft.

Ergebnis: Es verkalbte nach der Impfung noch 1 Kuh, die bereits vorher einmal verworfen hatte, im 8. Monat der Trächtigkeit.

Weitere Fälle von seuchenhaftem Abortus sind später nicht mehr beobachtet worden.

Einige Tiere rinderten mehrmals und mußten schließlich wegen Nichtaufnehmens verkauft werden.

4. Bestand.

Vom behandelnden Tierarzt wird berichtet, daß eine Kuh vor einem Monat, eine zweite vor einigen Wochen und 2 Kühe in den letzten 8 Tagen verworfen haben. Außer diesen 4 Kühen hat der Besitzer noch 7 Kühe, die tragend sind und 5 zweijährige Rinder, die in den nächsten 8—12 Wochen zugelassen werden sollen.

Einige Rinder sind wegen ständigen Umrinderns mit Bacillol-Vaginalkugeln behandelt worden.

Die Impfung erfolgt am 6. 12. 11.

Es erhalten:

3 Kühe im 1.—2. Monat trächtig:	Nr. 1, 3 und 4	——	Impfstoff A, 30 ccm
2 nichtträchtige Kühe	Nr. 2 und 5	——	Impfstoff A, 30 ccm
9 nichtträchtige Kühe und Rinder und 2 im 1.—4. Monat der Trächtigkeit stehende Kühe			bleiben als Kontrolltiere unbehandelt

Ergebnis: Von den Kontrolltieren verkalbte eine Kuh im 7. und eine andere im 8. Monat der Trächtigkeit.

Von den mit Impfstoff behandelten Kühen sind Nr. 2 und 3 hochtragend verkauft worden und sollen nach Angabe des früheren Besitzers normal gekalbt haben.

Bei allen geimpften und ungeimpften Tieren ist die Nachgeburt zurückgeblieben.

5. Bestand.

Zwei Wochen vor Feststellung des seuchenhaften Verwerfens verkalbte eine ältere Kuh im 8. Monat. Eine Woche später verkalbten 2 Färsen. Mehrere Kälber sind an Durchfall eingegangen. Das Leiden ist vermutlich durch 9 tragende Färsen eingeschleppt worden, die im Sommer 1911 neu eingestellt wurden. Im ganzen haben bisher 12 Tiere verkalbt. Der Bestand setzt sich aus 50 Kühen und 12 Färsen zusammen, von denen 28 Kühe trächtig sind. Umrindern, Nichtabgehen der Nachgeburt und ruhrartige Erkrankung der Kälber werden häufig beobachtet.

Die Impfung geschieht am 9. 1. 12 in folgender Weise:

6 Kühe im 1.—3. Monat trächtig	24, 27, 34	A, 30 ccm
	16, 38, 39	B, 30 „
8 Kühe im 4.—6. Monat trächtig	14, 1, 9, 20	A, 30 „
	19, 30, 31, 32	B, 30 „
14 Kühe im 7.—8. Monat trächtig	2, 5, 10, 11, 12, 15, 25	A, 30 „
	18, 21, 23, 29, 33, 35, 28	B, 30 „
34 nichtträchtige Kühe und Färsen	8, 22, 107, 108, 114, 92	A, 30 „
	Kühe: 3, 4, 6, 13, 26, 7 Färsen: 66, 77, 80, 81, 61, 73, 67, 72, 89, 53, 74, 86	C, 10 „
	17, 36, 37, 40, 83, 88, 91, 94, 96, 104	B, 30 „

Ergebnis: In den nächsten 3 Jahren haben die Kühe Nr. 5 und 24 von den mit Impfstoff A geimpften Tieren verworfen.

Von den Kontrolltieren haben Nr. 16, 31, 32 zum 2. Mal und Nr. 33 zum 1. Mal verworfen. Letztere wurde verkauft. Weitere 12 Kontrolltiere wurden wegen dauernden Umrinderns ebenfalls veräußert.

Die mit lebender Kultur geimpften Tiere haben alle normal gekalbt und haben auch gut aufgenommen.

Zurückhalten der Nachgeburt wurde bei verschiedenen Tieren auch später noch beobachtet.

6. Bestand.

Seit Juli d. J. trat Abortus bei den jungen Kalbinnen auf. Von 25 Färsen hat über die Hälfte der Tiere ohne Ausnahme 2—3 Monate zu früh gekalbt.

Am 8. 1. 12 wird ein kleinerer Teil des Bestandes dem Impfverfahren unterzogen und zwar werden geimpft:

11 hochträchtige Färsen mit Ab-Immunserum S = 100 ccm

und 10 im Anfang der Trächtigkeit stehende Kühe mit abgetöteter Kultur A = 30 ccm.

Am 12. 8. 12 wird die Impfung von 10 anderen trächtigen Rindern gewünscht. Es erhalten von:

10 im 6.—8. Monat der Trächtigkeit stehenden Kühen	Laura I und Laura II	A + S, 30 + 100 ccm.
	Puppe, Dattel, Liebling	A, 30 ccm
	Hilde, Orange, Pauline, Paula und Ostfriesin	B, 40 „

Am 15. 9. wurden die mit A + S und A geimpften Tiere mit Impfstoff A = 30 ccm nachgeimpft.

Am 19. 9. 12 wurden weitere 18 Tiere geimpft. Es erhielten:

14 Kühe im 5.–8. Monat der Trächtigkeit:
- Flora, Munter, Irrlicht, Matrone, Ilse, Posse — A, 30 ccm
- Minna, Nymphe, Primel, Chiorie, Polka, Prosa, Nobel, Palmette — B, 30 ccm

Ferner:

4 Starken: Perle, Prima, Luna, Elfe — C, 10 ccm

Die 2. Impfung der 6 mit A geimpften Tiere erfolgte am 20. 10. 12.
Im Februar 1913 wurden für weitere 16 Tiere Impfstoffe gefordert.
Es wurden am 25. 2. 13 geimpft:

16 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit:
- Nanny, Kranich, Irene, Quitte, Poppi, Elise, Madonna, Filia, Karausche — A, 30 ccm
- Persika, Pistole, Pfau, Kibitz, Oder, Polin, Päonie — B, 30 „

Auf besonderen Wunsch des Besitzers wurden dem behandelnden Tierarzt weitere Dosen Impfstoff A zur Nachimpfung sämtlicher mit B geimpften Kontrolltiere und zur Impfung von 25 noch nicht geimpften Kühen und Färsen übersandt.

Vor der Impfung haben etwa 20 Tiere verworfen. Bei 16 von diesen Tieren konnte die Infektion mit dem Erreger des seuchenhaften Verwerfens nachgewiesen werden. Nach der Impfung verkalbten 8 Kontrolltiere (Paula, Ostfriesin, Minna, Nymphe, Primel, Cichorie, Prosa und Palmette), eine mit A geimpfte Kuh (Matrone) und 4 der mit S behandelten Tiere. Von den mit C geimpften Tieren mußten 2 wegen dauernden Umrinderns verkauft werden. Weitere Fälle von seuchenhaftem Verwerfen wurden in den nächsten 2 Jahren nicht mehr beobachtet.

7. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 4 trächtigen und 3 nichtträchtigen Kühen zusammen. Die letzteren 3 Tiere haben vor 2 Monaten zum ersten Mal verkalbt.

Die 1. Impfung wurde am 29. 1., die 2. am 25. 3. 12 vorgenommen und zwar wurden geimpft:

4 im 2.—7. Monat der Trächtigkeit stehende Kühe mit Impfstoff A, 30,0 ccm
3 Kühe, die verkalbt haben, mit ——— „ C, 10,0 „

Die Impfung mit dem Impfstoff A wurde nach 8 Wochen wiederholt.

Ergebnis: Das Verwerfen hat ganz aufgehört.

8. Bestand.

Der behandelnde Tierarzt gibt folgenden Vorbericht:

„Der Besitzer hat insgesamt 6 Kühe und 2 nichtträchtige Färsen. Innerhalb weniger Wochen waren 3 Fälle von Verwerfen zu verzeichnen. 5 der Kühe stammen aus einem Bestande, in dem im verflossenen Jahre der infektiöse Abortus herrschte und mit einem Impfstoff, vermutlich „Abortin Höchst“, erfolgreich bekämpft wurde. Die 6. Kuh, die vor einigen Monaten normal kalbte, hat der Besitzer aus einem andern Stalle erworben.

Die übliche serologische und bakteriologische Untersuchung der eingesandten Blutproben und eines abortierten Rinderfoetus bestätigte den Verdacht auf seuchenhaftes Verwerfen.

Am 5. 2. 12 wurden geimpft:

3 nichtträchtige Kühe, die verworfen haben, mit Impfstoff C, 10 ccm
2 Kühe, die vor 1—2 Monaten gedeckt wurden, mit „ A, 30 „
1 nichtträchtige Kuh, die normal gekalt hatte, mit „ „ 30 „
2 nicht tragende Färsen: Nr. 7 mit ——— „ C, 10 „
Nr. 8 mit ——— „ A, 30 „

Die mit A behandelten Tiere wurden am 28. 3. und am 14. 5. nachgeimpft.

Ergebnis: Ein weiterer Fall von seuchenhaftem Abortus ist nicht mehr vorgekommen. Sämtliche Tiere haben auch wieder normal aufgenommen.

9. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 34. Unter diesen befinden sich 13 trächtige Kühe, 5 trächtige Färsen, 8 nichtträchtige Färsen und 8 nicht tragende Kühe, die einmal verworfen haben. Später kommen durch Kauf noch 15 Färsen hinzu, so daß die Gesamtzahl der dem Impfverfahren unterzogenen Tiere 49 beträgt. Im ganzen haben vor der Impfung 17 Tiere des Bestandes verworfen.

Am 16. 2. 12 erhalten:

7 Kühe und 5 Färsen im 7.—9. Trächtigkeitsmonat	Kühe: 27, 31, 45 und 50; Färsen: 58, 60, 62 und 63	A + S, 30 + 100 ccm
	Kühe: 26, 36 und 57; Färsen: 61	B, 30 ccm
6 im Anfang der Trächtigkeit stehende Kühe	22, 40, 43, 52	A, 30 „
	28, 48	B, 30 „
8 nichtträchtige Tiere, die verkalbt haben	19, 21, 56 und K 6	C, 10 „
	F 6, 13, 20 und 24	B, 30 „
8 nicht tragende Färsen	1, 3, 5, 7, 8	C, 10 „
	2, 4, 6	B, 30 „

Im Dezember 12 wurden 7 neugekaufte trächtige Färsen geimpft und zwar:

4 Färsen im 1.—3. Trächtigkeitsmonat mit A, 30 ccm
3 „ „ 1.—3. „ „ B, 30 „

Im August 1913 wurden wiederum 8 Färsen gekauft, von denen geimpft wurden:

4 Färsen, noch nicht gedeckt, mit C, 10 ccm
4 „ „ „ „ „ B, 30 „

Es wurden also geimpft: 8 Tiere mit A + S, 8 Tiere mit A, 13 Tiere mit C und 20 Kontrolltiere mit B.

Nach der Impfung wurden wegen Umrinderns verkauft 3 mit C, 2 mit A und 4 mit A + S geimpfte Tiere sowie 5 Kontrolltiere.

Ergebnis: Fälle von Umrindern und Zurückhalten der Nachgeburt wurden auch nach der Impfung noch beobachtet. Ferner mußten einige normal ausgetragene Kälber wegen Durchfalls und Lungenentzündung geschlachtet werden. In den 3 nächsten Jahren kam jedoch kein einziger Fall von Verwerfen mehr vor.

Der Besitzer übernahm später ein anderes Gut und ließ, da in dem Viehbestand ebenfalls das seuchenhafte Verwerfen herrschte, in der gleichen Weise wie früher fortlaufend impfen.

10. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt am 1. 2. 12. 59. Durch Kauf und Aufzucht kommen bis März 1914 noch 41 weibliche Rinder hinzu, die dem Impfverfahren unterworfen werden. Während der letzten Kalbeperiode vor der Impfung wurden 21 Fälle von Verwerfen verzeichnet. Ein Teil der Kühe, die verkalbt hatten, ist wegen ständigen Umrinderns bereits verkauft worden.

Die Impfungen wurden begonnen am 21. 2. 12. Die Impfstoffe wurden auf die einzelnen Tiere in folgender Weise verteilt:

11 nichtträchtige Kühe und Färsen	65, 142, 157, 170, F 302, Kutscher	C, 10 ccm
	40, 120, 145, 159, Schäfer	B, 30 „
7 Kühe und Färsen im 1.—4. Monat der Trächtigkeit	151, 166, 136 und F 279	A + S, 30 + 100 ccm
	126, 130 und F 277	B, 30 ccm

31 Kühe im 5.—7. Monat der Trächtigkeit	158, 162, 164, 165, 168, 169, 77, 86, 103, 106, 114, 121, 123, 85, 140, 147, 148, 149, 152, 153, 156	A + S, 30 + 100 ccm
	131, 163, 167, 129, 87, 118, 125, 144, 150, 155	B, 30 cm
10 Kühe im 8.—9. Monat der Trächtigkeit	276, 282, 284, 288, 296, 310, 311	A + S, 30 + 100 ccm
	F 251, 283, 309	B, 30 ccm

Am 17. 5. 12 wurde die 2. Impfung der mit den Impfstoffen A und A + S behandelten Tiere vorgenommen. Die mit A + S geimpften Tiere wurden mit A = 30 ccm nachgeimpft.

Gleichzeitig sollte die Impfung von 5 neu eingestellten Färsen mit Impfstoff C erfolgen, In einem späteren Schreiben teilt jedoch der Besitzer mit, daß die Impfung der 5 Färsen, die auf Weide waren, nicht erfolgen konnte, daß aber dafür 4 andere, bis jetzt noch nicht behandelte Tiere mit dem Impfstoff C geimpft worden seien. Ob das eine oder das andere dieser Tiere trächtig war, wurde nicht angegeben.

Am 4. 9. 12 wurden 3 neu eingestellte seit 3—4 Monaten trächtige Färsen mit A + S behandelt und nach 6 Wochen mit A = 30 ccm nachgeimpft.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die 4 fälschlicherweise mit C geimpften Tiere und eine andere mit C geimpfte Färse, die das 1. Mal kalben sollte. Im letzteren Fall ließ sich, da die Nummern der Färsen geändert worden waren, nicht mehr feststellen, ob die Impfung mit C bei diesen Tieren vorgesehen war, oder ob eine Verwechselung vorgelegen hatte. Ferner verkalbten 3 mit A + S geimpfte Tiere (158, 169 und 310), 4 mit B geimpfte Kontrolltiere und 5 ungeimpfte Färsen.

Der Besitzer ließ am 14. 1. 13. 14 neu hinzugekommene Kühe, am 8. 9. 13. 7 und am 3. 3. 14 12 gekaufte und im Anfang der Trächtigkeit stehende Färsen zum 1. Mal impfen.

Es erhielten am 14. 1. 13:

4 Kühe, die früher einmal verworfen hatten	183, 185	C, 10 ccm
	181, 184	B, 30 „
10 Kühe im 3.—5. Monat der Trächtigkeit	182, 350, 354, 357, 362, 363	A, 100 „ [1]
	365, 367, 5281, 372	B, 30 „

Am 8. 9. 13:

4 Färsen im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	5294, 5287, 382 und 391	A, 50 „ [2]
	5289, 387, 389	B, 30 „

Am 3. 3. 14:

12 Färsen im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	388, 5301, 5304, 403, 5305, 5582	A, 50 „
	5296, 393, 5302, 5303, 404 und 5581	B, 30 „

Die mit A behandelten Tiere wurden 8 Wochen später nachgeimpft.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die Kuh Nr. 357 (A) und die Färse 403 (A) Von den Kontrolltieren haben die Färsen 387, 5296 und 184 ebenfalls verworfen.

11. Bestand.

Die Anzahl der Kühe und Färsen beträgt 49. Seit 3 Monaten herrscht in dem Bestande das ansteckende Verkalben. 10 Kühe haben bereits verworfen. 3 von den Kühen, die abortiert haben, sind verkauft worden.

Die 1. Impfung erfolgte am 10. 2. 12, die 2. Impfung am 9. 4. 12.

---

[1]) A = 100 sind 100 ccm einer gewöhnlichen bei 55° abgetöteten Bouillonkultur.

[2]) Der Impfstoff A = 50 besteht aus einer Agarkultur in einer Kolleschale, die mit 50 ccm physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt und bei 55° C im Wasserbad abgetötet wurde.

Es erhalten:

18 Jungrinder (nichtträchtig)	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 19	C, 10 ccm
	2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18	B, 30 „
10 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	K 4, K 14, K 15, 22, 27, 31	A + S, 30 + 100 ccm
	K 5, K 8, K 10, F 28	B, 30 ccm
7 Kühe und Färsen im 1.—5. Monat der Trächtigkeit	K 1, K 2, 32, 36	A, 30 „
	K 13, 33, 34	B, 30 „
10 nichtträchtige Kühe, die teils verkalbt hatten	22, 19, 27, 35, 38	A, 30 „
	16, K 9, 23, 26, 39	B, 30 „

4 Jungrinder bleiben ungeimpft.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten 4 Kontrolltiere (26, K 9, K 13 und K 5) zum 2. Mal und 1 Kontrolltier (6) zum 1. Mal. Ferner abortierte die mit A + S geimpfte Kuh Nr. 31 und die mit A geimpfte Kuh 36 zum 1. Mal. Sämtliche dieser Tiere verwarfen $1\frac{1}{2}$—$2\frac{1}{2}$ Monate vor Ablauf der Trächtigkeit. 4 der mit C geimpften Rinder kalbten normal, 4 wurden hochtragend verkauft und 2 blieben güst. Ferner wurden noch 2 mit A + S und 3 mit A behandelte Tiere, die mehrmals umrinderten, als nicht tragend verkauft.

12. Bestand.

In dem Bestand, der sich aus 45 Kühen und Färsen zusammensetzt, herrscht seit Jahren das seuchenhafte Verkalben. Im Jahre 1905 kam der erste Fall von Verwerfen vor. Im letzten Monat verkalbten 3 und vor 2 Monaten 2 Kühe. Die meisten Kühe rindern 3—5 mal um. Die Zahl der Abortusfälle läßt sich nicht mehr genau feststellen.

Die 1. Impfung wird am 19. 2. 12, die 2. am 27. 4. 12 vorgenommen.

Es erhielten:

15 nichtträchtige Kühe und Färsen, von denen ein Teil abortiert hat	114, 125, 115, 120, 105, 130, 135	C, 10 ccm
	149, 119, 70, 66, 106, 98, 131 und 133	B, 30 „
14 Kühe in der 2. Hälfte der Trächtigkeit	44, 41, 55, 72, 51, 84, 150	A + S, 30 + 100 ccm
	54, 108, 94, 32, 36, 61, 38	B, 30 ccm
16 Kühe und Färsen im 1.—3. Monat der Trächtigkeit oder unbekannter Trächtigkeit	81, 91, 74, 103, 124, 123, 144 und 147	A, 30 „
	37, 83, 101, 110, 112, 127, 107, 139	B, 30 „

Ergebnis: Vor der Impfung hatten von 40 Kühen nur 8 normal gekalbt. Etwa 18 Kühe hatten in der letzten Kalbeperiode verworfen und die übrigen mehrmals umgerindert ohne aufzunehmen.

3 bis 4maliges Umrindern wurde auch nach der Impfung noch beobachtet. Von den geimpften Tieren verkalbte 1 mit C behandelte Färse (135) und die 2 mit A behandelten Kühe 91 und 103 zum 2. Mal und zwei weitere mit Impfstoff A geimpfte Kühe Nr. 144 und 147 zum 1. Mal.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 149, 106, 127, 107 und die Färse 101.

Auf Wunsch des Besitzers wurden sämtliche Tiere des Bestandes und 12 neu hinzugekommene trächtige Färsen am 18. 10. 13 einer weiteren Impfung unterzogen.

Bei dieser Impfung wurden sämtliche Kühe, die verworfen hatten, mit lebender Kultur und die übrigen, früher mit Impfstoffen behandelten Kühe und Färsen sowie alle Kontrolltiere mit dem Impfstoff A = 25 ccm geimpft.

Von den neu hinzugekommenen Tieren wurde die eine Hälfte mit dem Impfstoff A = 25, die andere zur Kontrolle mit steriler Bouillon B = 30 wie folgt geimpft:

12 Färsen im 1.—7. Monat der Trächtigkeit
- 158, 160, 164, 166, 174, 176 — A, 25 ccm
- 156, 162, 163, 170, 172, 168 — B, 30 „

Die Impfung mit dem Impfstoff A wurde am 20. 12. 13 wiederholt.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten von den 12 zuletzt geimpften Färsen die Färsen Nr. 166 (A) und 156 (B). Über weitere Fälle von Verwerfen ist bis zum Abschluß der Versuche nichts mehr bekannt geworden. Dagegen wurde mitgeteilt, daß sämtliche ausgetragenen Kälber an Durchfall erkrankten.

13. Bestand.

Der Kreistierarzt, der die Impfungen in diesem Bestand ausführte, gibt folgenden Vorbericht:

Der Besitzer hat etwa 40 Milchkühe. Von diesen haben bis jetzt 20 verkalbt. Der Abortus begann Anfang August v. J. auf der Weide. Es wird vermutet, daß die Seuche eingeschleppt worden ist durch zwei Stiere eines anderen Besitzers, unter dessen Vieh das seuchenhafte Verkalben geherrscht haben soll. Die Kühe haben meist 8—9 Wochen zu früh gekalbt. Fälle von Verwerfen sind in dem Bestande früher nicht aufgetreten.

Die erste Impfung erfolgte am 5. 3. 12, die 2. Impfung am 7. 5. 12.

19 Rinder, die verkalbt haben und vor 1—3 Monat wieder gedeckt worden sind
- Hannchen, Ida, Hulda, Lady, Molly, Martha, Magda, Meta, Malli, Gent und Magdalene — A + S, 30 + 100 ccm
- Marke, Juka, Lotte, Clara, Melitta, Nero, Kaiser und Nettchen — B, 30 ccm

2 Kühe, die normal gekalbt haben und vor 1 Monat gedeckt worden sind
- Hertha — A + S, 30 + 100 ccm
- Kriemhild — B, 30 ccm

10 nicht tragende Rinder . . . . .
- Laura, Kuckuk, Irma, Irene, Künstlerin — C, 10 „
- Rehlamm, Minna, Marie, Irene II, Hilma — B, 30 ccm

Zur Impfung ist zu bemerken, daß die 10 letztgenannten Rinder, die erst 8 Wochen nach der Impfung belegt werden sollten, bereits vor der Impfung zum Bullen geführt, zur Hälfte also fälschlicherweise mit Impfstoff C behandelt wurden.

Im April 12 sind weitere Impfstoffe angefordert worden für Tiere, die am 11. 4. 12 wie folgt geimpft wurden:

2 nichtträchtige Rinder (Erstlinge) . .
- Olga — Aa, 30 ccm
- Ole — B, 30 „

8 Färsen, die noch nicht gedeckt sind und bereits gekalbt oder verworfen haben
- Otter, Nanni, Fedor, Marga, Bora — Aa, 30 „
- Mathilde, Nonne, Emma — B, 30 „

10 Färsen im 1.—2. Mon. der Trächtigkeit
- Ocker, Gisela, Isabella, Natalie, Nixe — Aa, 30 „
- Ottomane, Omer, Nelli, Clementine, Bertha — B, 30 „

Ergebnis: 3 mit dem Impfstoff A + S geimpften Kühe und 1 mit A behandelte Kuh haben nach der Impfung gefiebert.

Verkalbt haben nach der Impfung Hannchen und Ida (A + S), Lotte, Melitta, Nero, Kaiser und Nettchen (5 Kontrolltiere), Irma (C), Isabella (Aa) und Mathilde (Kontrolltier).

3 mit Impfstoff Aa behandelte Kühe und 1 mit Impfstoff C geimpfte Färse haben 7–18 Wochen zu früh lebende und am Leben gebliebene Kälber geboren.

Wegen Nichtaufnehmens wurden verkauft: Magdalene und Meta (A + S), Künstlerin (C), Marga (Aa) sowie Marke, Inka, Clara, Marie, Nelli, Clementine, Emma und Nonne (8 Kontrolltiere).

14. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 33. In den letzten 6 Wochen haben 3 Kühe verkalbt. Die erste Impfung wurde am 14. 3. 12, die zweite am 24. 5. 12 vorgenommen.
Es erhielten:

13 Kühe im 2—7 Mon. d. Tr. 4 Kühe mit unbekannter Tr.	2, 3, 8, 10, 12, 15, 16, 17, 31	Aa + S, 30 + 100
	20, 7, 4, 1, 6, 11, 13, 18	B, 30 ccm
12 nichtträchtige Kühe u. 4 Färsen	21, 26, 19, 27, 29, 22, 24, 5, 30	C, 10 „
	23, 25, 28, F 4, F 5, F 6, F 7	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die neu zugekaufte Kuh 17 (A + S), die Kühe 19 und 24 (C) und die Kühe 7, 4, 28 und 23 (B).

Vier mit C geimpfte Kühe haben viermal gerindert und nicht aufgenommen.

15. Bestand.

Nach dem Bericht des Kreistierarztes setzt sich der Viehbestand zusammen aus 40 Kühen, 20 Rindern und 10 Kälbern. Seit 2 Jahren herrscht seuchenhafter Abortus unter den Tieren. In dieser Zeit haben 40 Kühe und Rinder verworfen, im vergangenen Frühjahr sämtliche Rinder.
Es werden am 12. Juni geimpft:

23 nichtträchtige Kühe	91, 119, 120, 121, 122, 125, 126 127, 128, 129, 130	A, 30 ccm
	47, 50 1, 3, 12, 19, 21, 22, 25, 28, 42, 45	B, 30 „
im 1.—6. Monat d. Trächtigkeit befindliche Kühe und Färsen	135, 136, 137, 138, 139, 140, 141 142, 144, 145, 146, 147, 143	A, 30 „
	51, 55, 59, 66, 67, 72, 82, 88, 93, 97 99, 94, 101, 102, 103, 105, 112, 114	B, 30 „

Ergebnis: Während der nächsten Kalbeperiode verkalbten 3 mit Impfstoff A behandelte Kühe (126, 127, 136) und ein Kontrolltier (22). 6 mit A geimpfte Kühe und 7 Kontrolltiere wurden wegen Nichtaufnehmens verkauft.

16. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 58. Einige Wochen vor der Impfung haben 8 Kühe verkalbt. Die erste Impfung erfolgte am 13. 3. 12 und die zweite am 16. 5. 12.
Es enthielten:

6 hochtragende Kühe	334, 335, 231	Aa, 30 ccm
	493, 494, 20	B, 30 „
42 Kühe und 3 Färsen, die im 1.—5. Mon. d. Trächtigk. stehen	F 100, 101, 102, 107, 333, 590, 565 4, 19, 15, 40, F 63, F 9, 19, 6, 10 39, 517, 531, 68, 61	Aa, 30 „
	43, 28, 516, 26, 41, 54, 513, 514 62, 32, 69, 65, 59, 530, 8, 488 491, 490, 489, 495, 496	B, 30 „

10 nichtträchtige Kühe	33, 42, 53, 56, 313	C, 10 ccm
	103, 104, 105, 106, 492	B, 30 „

Ergebnis: Während der auf die Impfungen folgenden Kalbeperiode verkalbten die 3 mit Impfstoff Aa behandelten Färsen 100, 63 und 9, ferner die mit Impfstoff C behandelte Kuh 42 und 2 Kontrolltiere (54 und 59).

4 Kontrolltiere und 1 mit Aa behandelte Kuh wurden wegen Nichtaufnehmens verkauft.

Die mit lebender Kultur geimpfte Kuh 42, die vor der Impfung einmal verkalbt hatte, wurde in der Bestandsliste als nichtträchtig angegeben. Sie stand jedoch zur Zeit der Impfung im 3. Monat der Trächtigkeit, ist demnach fälschlicherweise mit lebender Kultur behandelt worden und hat deshalb wieder verkalbt.

17. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 1 trächtigen Kuh und 2 trächtigen Färsen, 11 nichtträchtigen Kühen und 1 nichtträchtigen Färse, also insgesamt aus 15 Tieren zusammen. Vor der Impfung haben 11 von den Kühen verkalbt.

Die 1. Impfung wurde am 13. 3. 12, die zweite am 16. 5. 12 vorgenommen.

Es erhielten:

10 nichtträchtige Kühe, die verkalbt haben	Marie, Dori, Lene, Meta, Lucie	C, 10 ccm
	Rike, Karla, Karola, Lina, Paula	B, 30 „
5 { 1 Kuh und 2 Färsen seit 1 Mon. trächtig und 1 nichtträchtige Kuh u. 1 nichtträchtige Färse	Schnibbe, Weißkopf	Aa, 30 „
	Rosa, Jette, Brigitte	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbte die Kuh Karola (B) im 8. Monat der Trächtigkeit. In der 2. auf die Impfung folgenden Kalbeperiode verwarf die Kuh Paula (B) ebenfalls im 8. Monat. 4 weitere Kontrolltiere, darunter Lina und Karla, wurden wegen Nichtaufnehmens auf Mast gestellt.

18. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 60. Das seuchenhafte Verkalben scheint frisch in den Rindviehbestand eingeschleppt worden zu sein. Vor der Impfung haben 14 Tiere verkalbt.

Die Impfung wurde am 11. 3. 12 vorgenommen und bei den mit Impfstoff A behandelten Tieren am 13. 5. 12 wiederholt.

Die Impfstoffe wurden auf die einzelnen Tiere wie folgt verteilt:

26 nichtträchtige Kühe . . .	14, 5, 7, 257, K 41, 9, K 43 12, 50, 49, 51, 54, 53	C, 10 ccm
	R 269, R 192, 23, 12, 272 276, 33, 253, 254, 249, 56, 55, 52	B, 30 „
13 Kühe und Färsen im 1.—5. Monat der Trächtigkeit	R 190, R 287, 169, 275, 286, 30, 280	A, 30 „
	27, 2, 283, 8, 251, 32	B, 30 „
21 Kühe und Färsen im 1.—5. Mon. der Trächtigkeit	284, 29, 28, 247, 1, 13, 31, 15 271, 37, 245, 270, 256, 257	A, 30 „
	40, 38, 269, 39, 234, 16, 18	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die Kühe 275, 286, 30, 284 und 247 (A) und die Rinder 190, 287 und 16 (A), ferner die Kontrolltiere 52 und 16. Ob im Jahre 1914 und später noch mehr Kühe verkalbten, ist nicht bekannt geworden.

5 Kontrolltiere und 2 mit Impfstoff C behandelte Tiere (Nr. 12 und 50) wurden verkauft, weil sie nicht mehr trächtig wurden. Unter den ersteren befanden sich auch die Kühe 2 und 8, die sich als nichttragend erwiesen hatten.

19. Bestand.

Im Bestand befinden sich 6 Kühe, 1 gedecktes Jungrind, zwei $^1/_2$jährige Tiere und eine vor 6 Monaten zugekaufte Kuh, die wahrscheinlich die Seuche eingeschleppt hat.

Von den Kühen hat eine nach $6^1/_2$ Monate langer Trächtigkeit verkalbt.

Die erste Impfung erfolgte am 16. 3. 12, die zweite am 17. 5. 12.

Mit Rücksicht auf die geringe Anzahl der Tiere wird auf Wunsch des behandelnden Tierarztes von einer Kontrollimpfung mit dem Kontrollimpfstoff B Abstand genommen.

Es erhalten:

3 Kühe, die seit 1—3 Monaten trächtig sind	1, 2, 3	Aa, 30 ccm
5 nichtträchtige Tiere	4, 5, 6, J. I und J. II	C, 10 „

Ergebnis: 5 Monate nach der Impfung hat die Kuh 3 zwei Monate zu früh ein totes Kalb geboren. Die übrigen Tiere kalbten normal. Umrindern, Zurückhalten der Nachgeburt und Verwerfen wurden später nicht mehr bemerkt.

20. Bestand.

Der Bestand zählt 12 Kühe, von denen 7 trächtig und 5 nichtträchtig sind. In den letzten 3 Monaten haben 5 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung wird am 6. 4. 12, die zweite am 6. 8. 12 vorgenommen.

Es erhalten:

2 Kühe im 8. Mon. der Trächtigk.	1	A + S, 30 + 100 ccm
	2	B, 30 ccm
10 Kühe, von denen 5 seit 1—4 Monaten trächtig, die anderen (8—12) nichtträchtig sind	3, 4, 6, 8, 10, 11	A, 30 „
	5, 7, 9, 12	B, 30 „

Ergebnis: Kuh 6 verkalbte am 14. 7. 12, also 3 Wochen vor der 2. Impfung im 8. Monat der Trächtigkeit. Von den Kontrolltieren verkalbte Kuh 7 ebenfalls im 8. Monat der Trächtigkeit. Weitere Fälle von Verwerfen kamen nicht mehr vor.

21. Bestand.

Der Bestand setzt sich zusammen aus 2 vor einigen Wochen gedeckten Kühen, einer als trächtig zugekauften Kuh, 5 nichtträchtigen Kühen und einem noch nicht zugelassenen 13 Monate alten Rind.

Vor der Impfung verkalbte eine neu eingestellte Kuh.

Die erste Impfung wurde am 13. 4. 12 und die zweite am 10. 6. 12 vorgenommen.

Die einzelnen Tiere erhielten dabei folgende Impfstoffe:

3 gedeckte Kühe	1, 9	A, 30 ccm
	2	B, 30 „
5 nichtträchtige Kühe und 1 Rind	3, 4, 5, Rind	C, 10 „
	6, 7	B, 30 „

Ergebnis: Von den geimpften Tieren kalbte Kuh 9 (zugekauft) um 3 Wochen zu früh. Das Kalb verendete einige Tage nach der Geburt. Die Kühe 2 und 7 (B) und die Kuh 1 (A) wurden trächtig verkauft. Kuh 4, mit Impfstoff C behandelt und tragend, verendete 5 Monate nach der Impfung an Tympanitis. Die übrigen Tiere kalbten normal.

22. Bestand.

Der Viehbestand besteht aus 10 Tieren, von denen 6 trächtig sind.

Eine von den Kühen hat 4 Monate und eine andere 2 Monate vor Aufnahme des Bestandes verkalbt.

Die erste Impfung wird am 15. 4. 12 wie folgt vorgenommen:

1 nichtträchtige Kuh (Nr. 1), die verkalbt hat ——— C, 10 ccm

1 Kuh (Nr. 2), die verkalbt hat und vor 1 Monat wieder gedeckt wurde — A, 30 „

1 nichtträchtige und 1 im 2. Monat der Trächtigkeit stehende Kuh (Nr. 3 und 10) ——— A, 30 „

2 nichtträchtige Kühe (Nr. 4 und 5) ——— B, 30 „

3 im 6.—8. Monat der Trächtigkeit stehende Kühe (6, 7, 9) ——— A + S, 30 + 100 ccm

1 im 8. Monat der Trächtigkeit stehende Kuh (8) ——— B, 30 ccm

Bei der zweiten Impfung, die am 24. 6. 12 erfolgte, wurden die mit A und A + S behandelten Tiere mit Impfstoff A nachgeimpft.

Ergebnis: Kuh 1, mit Impfstoff C behandelt, verkalbte nach der Impfung zum zweiten Mal im 8. Monat der Trächtigkeit. Aus der Impfliste ging hervor, daß die Kuh bereits im März 1912, also 1 Monat vor der Impfung gedeckt worden war. Kuh 10 (A) verwarf ebenfalls im 8. Monat der Trächtigkeit.

Die mit Impfstoff A behandelte Kuh 2 wurde vor Ablauf der Trächtigkeit verkauft.

Ein weiterer Fall von Verwerfen wurde nicht mehr beobachtet.

23. Bestand.

Im Bestand befinden sich 35 Tiere. Von den Kühen haben 9 verkalbt. Der Besitzer hat verschiedene Kühe (Nr. 11, 12 und 18—20) auf Märkten in Ostpreußen gekauft und glaubt, mit ihnen den Abortus in seinen Bestand eingeführt zu haben. Bei allen Kühen, die abortierten und öfters auch bei ganz normal kalbenden Tieren blieb die Nachgeburt längere Zeit fest. Sämtliche Kühe zeigten außerdem die Erscheinungen des ansteckenden Scheidenkatarrhs. Umrindern wurde häufig beobachtet. Die Kühe müssen durchweg 3—5 mal und öfter geführt werden, bis sie aufnehmen.

Die erste Impfung wurde am 17. 5 vorgenommen.

Es erhielten:

16 nichtträchtige Tiere und Tiere mit unbekannter Trächtigkeit	1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 12, 16, 19, 24 —	A, 30 ccm
	14, 20, 21, 23 ———	B, 30 „
10 im 1.—5. Monat der Trächtigkeit stehende Tiere	4, 9, 13, F 3, F 8, 7, 17, 18 ———	A, 30 „
	22, *F 15* ———	B, 30 „

6 nichtträchtige Tiere (Kuh Nr. 15 und Jungrinder 16—20) ——— C, 10 „

3 Jungrinder, Nr. 25, 26 und 27, bleiben ungeimpft.

Bei der am 2. 7. 12 erfolgten zweiten Impfung wurden sämtliche mit Impfstoff A behandelten Tiere mit dem gleichen Impfstoff nachgeimpft. Die übrigen Tiere blieben wie sonst ungeimpft.

Ergebnis: Während bei der ersten Impfung keinerlei Schädigungen zu beobachten waren, traten nach der zweiten Impfung bei 3 Tieren starke Schwellungen an der Impfstelle auf. Der Besitzer teilte ferner in einem Schreiben an den behandelnden Tierarzt mit, daß der Milchertrag nach der zweiten Impfung rapid gesunken sei.

Verkalbt haben nach der ersten Impfung die Tiere Nr. 6, 7 und 18, die mit Impfstoff A behandelt worden waren. Einige Monate nach der zweiten Impfung verkalbten noch 4 weitere mit Impfstoff A behandelte Tiere und zwar die Kühe 8, 17 und die Färsen F3 und F8. Ferner verkalbten die Färse F15 (B) und 3 nicht geimpfte Kontrolltiere.

Zurückhalten der Nachgeburt wurde allgemein beobachtet. Ganz auffallend war in diesem Bestand das häufige Umrindern und Nichtaufnehmen der Tiere. Viele Kühe wurden in einem Zeitraum von mehreren Monaten bis zu einem Jahr sehr oft zugelassen, ohne aufzunehmen und mußten deshalb verkauft oder auf Mast gestellt werden.

Verkauft wurden die Tiere 3, 7, 8, 11, 12, 16, 17, 19, 24, F3 und F8 (A), ferner 14 und 20 (B) und 5 mit C behandelte Tiere.

24. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 41, darunter sind 26 trächtige und 15 nichtträchtige und noch nicht gedeckte Jungrinder. Nach einem Bericht des Besitzers verkalben die Kühe in der Regel im 8. Monat der Trächtigkeit. Die Kälber leben gewöhnlich 3 Tage und gehen dann an Durchfall ein. Bis jetzt haben 17 Kühe verkalbt. Der Besitzer glaubt einen Teil der Abortusfälle auf den in seinem Stall verbreiteten ansteckenden Scheidenkatarrh zurückführen zu müssen, was jedoch durch die serologische Untersuchung des Blutserums der einzelnen Tiere auf infektiösen Abortus, die ein positives Ergebnis lieferte, widerlegt wurde.

Die erste Impfung wurde am 17. 6. 12, die zweite am 14. 9. 12 vorgenommen.

Die Impfstoffe wurden wie folgt verteilt:

5 Kühe im 8. Monat d. Trächtigk.	17, 5, 54	A + S, 30 + 100 ccm
	56, 49	B, 30 ccm
9 Kühe im 4.—7. Mon. d. Trächtigk.	7, 25, 28, 29, 39	A, 30 „
	45, 46, 47, 57	B, 30 „
12 Kühe und Rinder im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	8, 12, 16, 21, 42, 44	A, 30 „
	48, 51, 52, 53, 55, 58	B, 30 „
15 nichtträchtige Tiere (Kühe u. Jungrinder)	1, 6, 9, 11, 18, 19, 23	C, 10 „
	4, 26, 27, 31, 36, 40, 41, 50	B, 30 „

Ergebnis: Bei der mit Impfstoff C behandelten Kuh Nr. 18 wurde nach der ersten Impfung eine bedeutende Verringerung der Milchleistung beobachtet. Nach 14 Tagen hatte der Milchertrag wieder die alte Höhe erreicht.

6 Monate nach der 1. Impfung hat die mit Impfstoff C behandelte Kuh Nr. 11 im 8. Monat der Trächtigkeit verkalbt. Die Kuh hatte nach der Impfung nicht mehr gerindert, war also zweifellos bei der Vornahme der Impfung trächtig und ist demnach fälschlicherweise mit Impfstoff C behandelt worden. 3 Tiere (25, 48 u. 54), von denen 1 mit A und 2 mit B geeimpft waren, mußten wegen Nichtaufnehmens verkauft werden. Zwei mit Impfstoff C behandelte Tiere (17 und 18) wurden tragend verkauft. Die übrigen Tiere haben alle normal abgekalbt. Innerhalb der zweiten auf die Impfungen folgenden Kalbeperiode ist ein weiterer Fall von Verkalben nicht mehr vorgekommen.

Sämtliche Tiere nahmen gut auf. Nur eine Kuh (21) mußte 6 mal zugelassen werden.

25. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 28. Vor der Impfung haben 9 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 17. 6. 12, die zweite am 19. 8. 12 vorgenommen.

Es erhalten:

1 hochträchtige Kuh	Eulalia	A + S, 30 + 100 ccm
10 Kühe im 5.—8. Mon. d. Trächtigk.	Schnell, Stern, Hertha, Lilli, Fröhlich	A + S, 30 + 100 „
	Hulda, Else, Erna, Rosa, Laura	B, 30 ccm
9 Kühe im 1.—5. Monat d. Trächtigk.	Blume, Brunhilde, Kregel, Martha	A, 30 „
	Alma, Lotte, Frieda, Lütt, Flora	B, 30 „
8 nichtträchtige Kühe und Rinder .	Blesse, Ida, Rind 1 u. Rind 2	A, 30 „
	Paula, Minna, Helga, Molli	B, 30 „

Außerdem wurden noch 10 Rinder, die vor dem Abkalben wieder verkauft wurden, zur Hälfte mit Impfstoff A und steriler Bouillon geimpft.

Ergebnis: Die mit Impfstoff A + S behandelte Kuh Eulalie kalbte einige Tage nach der ersten Impfung um 4 Wochen zu früh. Das Kalb blieb am Leben. Ferner haben die Kühe Lilli (A + S) Martha (A) und die Kontrolltiere Else, Erna und Rosa verkalbt. Die Kontrolltiere Molli und Flora sind mehrfach gedeckt und wegen Nichtaufnehmens auf Mast gestellt worden.

26. Bestand.

Im Bestand befinden sich 8 Kühe, von denen 7 Kühe trächtig sind und 1 Kuh zur Mast gestellt ist. 4 von den Kühen haben in der letzten Trächtigkeitsperiode verkalbt.

Die erste Impfung erfolgt am 19. 7. 12, die zweite am 23. 9. 12.

Es erhalten von:

7 im 5.—7. Monat der Trächtigkeit stehenden Kühen	1, 3, 5, 7	A + S, 30 + 100 ccm
	4, 6, 8	B, 30 ccm

Ergebnis: Die Kuh 6, die als Kontrolle diente, mußte wegen Nichtaufnehmens verkauft werden. Die übrigen Tiere kalbten alle normal. Ein weiterer Fall von seuchenhaftem Verwerfen wurde auch später nicht mehr beobachtet.

27. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 31, von denen 13 trächtig sind. 6 Kühe haben verkalbt und rindern seither dauernd um.

Die erste Impfung wurde am 12. 7. 12, die zweite am 27. 9. 12 vorgenommen.

Es erhielten:

Eine hochtragende Kuh, die Anzeichen des Verwerfens zeigte —— S, 100 ccm

Ferner erhielten von:

5 im 7.—8. Monat der Trächtigkeit stehende Kühe	4, 7, 8	A + S, 30 + 100 ccm
	12, 13	B, 30 ccm
7 im 5.—7. Monat der Trächtigkeit stehende Kühe	9, 10, 11, 22	A + S, 30 + 100 ccm
	14, 15, 16	B, 30 ccm

und von

18 nichtträchtigen Kühen u. Rindern	1, 5, 17, 31	C, 10 „
	2, 18, 19, 27, 28, 26, 29	A, 30 „
	20, 21, 23, 24, 25, 3, 6	B, 30 „

Bei der zweiten Impfung wurden nur die mit den Impfstoffen A und A + S behandelten Tiere einer Nachimpfung mit dem Impfstoff A unterzogen.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die mit Impfstoff A + S geimpfte Kuh 11 im 8. Monat, die mit Impfstoff C geimpfte Kuh 17 im 7. Monat und die Kontrolltiere 20 und 21 im 8. Monat der Trächtigkeit.

Hochtragend wurden verkauft: die mit Impfstoff A behandelten Kühe 26, 27 und 29 und die zur Kontrolle mit steriler Bouillon geimpften Kühe 16 und 24.

Wegen Umrinderns und Nichtaufnehmens wurden ausgemerzt die Kühe 19 und 28 (A) sowie die Kuh 6 (B).

Das Verwerfen hat nach den erwähnten Fällen gänzlich aufgehört.

28. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 19 trächtigen Kühen und 28 nichtträchtigen Kühen und Jungrindern, also aus insgesamt 47 Tieren zusammen.

Die Gesamtzahl der Abortusfälle ist nicht mehr genau festzustellen. In den letzten 8 Monaten haben 15 Tiere verkalbt. Auf der Bestandsliste sind 2 Kühe bezeichnet, die verworfen haben.

Die erste Impfung erfolgt am 26. 7. 12 und die zweite am 5. 10. 12.

Es erhalten:

19 Tiere (5 im 6.—8. und 14 im 3.—5. Monat der Trächtigkeit)	1, 2, 3, 4, 5	A + S, 30 + 100 ccm
	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12	A, 30 ccm
	13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	B, 30 „
28 nichtträchtige Tiere	20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33	C, 10 „
	34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung haben die mit Impfstoff A behandelten Kühe 6, 7, 9 und 10, die mit Impfstoff A + S behandelte Kuh 3, das mit Impfstoff C geimpfte Rind 32 und die Kontrolltiere 44, 37, 19, 16 und 14 verkalbt.

9 Kontrolltiere wurden nichtträchtig geschlachtet.

Der Besitzer schreibt, daß sämtliche Tiere, die verkalbt haben, von seinem eigenen Bullen gedeckt, dagegen die Tiere, die normal abgekalbt haben als trächtig zugekauft, also von fremden Bullen gedeckt worden seien. In Anbetracht der großen Verluste will der Besitzer alle Kühe und Rinder abschaffen, die Ställe desinfizieren, und später wieder neues Vieh einstellen, das gleich zu Anfang gegen den seuchenhaften Abortus geimpft werden soll.

29. Bestand.

Im Bestand befinden sich 14 Tiere, von denen 5 zum Schlachten verkauft werden sollen. Vor der Impfung haben 3 Kühe im 8. Monat der Trächtigkeit verkalbt und sind deshalb verkauft worden.

Von den für die Impfung in Betracht kommenden 9 Tieren stehen 2 Kühe im 6. und 8. Monat und 6 Kühe im 2.—5. Monat der Trächtigkeit. Ein $1^1/_2$jähriges Rind soll in den nächsten Wochen zugelassen werden.

Die Impfungen wurden am 6. 8. und 4. 10. 12 vorgenommen.

Es erhalten von:

8 trächtigen Kühen	Johanna, Clara	A + S, 30 + 100 ccm
	Erna, Anna, Marie	A, 30 ccm
	Gertrud, Petronella, Sibylla	B, 30 ccm
1 nichtträchtiges Rind wird geimpft mit		C, 10 ccm

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die Kühe Anna und Maria (A) und die Kuh Clara (A + S). Die 3 Kontrolltiere und das mit C geimpfte Rind wurden im trächtigen Zustand verkauft.

30. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 48. Von diesen sind 41 trächtig und 7 nichtträchtig oder überhaupt noch nicht zugelassen. Das seuchenhafte Verwerfen herrscht in diesem Bestande, in dem immer viel Vieh durch Verkauf und Zukauf gewechselt wird, schon seit 7 Jahren. Die in dieser Zeit vorgekommenen Fälle von Verwerfen sind ihrer Zahl nach nicht mehr genau festzustellen.

Während der letzten Kalbeperiode haben 9 Tiere verworfen.

Die erste Impfung wurde am 9. 8. 12 und die zweite am 4. 10. 12 vorgenommen.

Die Verteilung der Impfstoffe geschah folgendermaßen:

14 Kühe und Rinder im 6.—7. Monat der Trächtigkeit	Heika, Toga, Rosa, Sophie, Todeska, Harfe I, Uarda	A + S, 30 + 100 ccm
	Hanne, Trina, Heide, Litta I, Ulla II, Blonde, Waldfee II	B, 30 ccm

28 Kühe und Rinder im 2.—5. Monat der Trächtigkeit	Nonia, Wellgunde, Ulrike II, Hertha, Schweizer, Unka, Undine, Laura, Rosa II, Gisa, Alice, Blonde, Waldfee, Wilna	— A, 30 ccm
	Hortensie, Laura, Alanda, Hekube, Trudel, Karola, Ulrike, Netta I, Himbeere, Thekla, Undine I, Zamba, Benninge, Ulla I	— B, 30 „
6 nichtträchtige Kühe und Rinder . . .	Heidelbeere, Himbeere II, Kalla, Harpune	— C, 10 „
	Netta II, Thekla II, Elster	— B, 30 „

Zur Impfung ist zu bemerken, daß die Kühe Rosa, Toga und Harfe I (A + S) einen Tag nach der Einspritzung des Impfstoffs nur die Hälfte der sonstigen Milchmenge lieferten. Am zweiten Tage nach der Impfung war die Milchsekretion wieder normal.

Ergebnis: Von den geimpften Tieren verkalbten die beiden Rinder Nonia und Wilma, die mit Impfstoff A behandelt worden waren. Ferner verkalbten die mit Impfstoff A + S behandelten Kühe Harfe I und Todeska sowie die mit Impfstoff C geimpfte Kuh „Harpune“. Für letztere, die einige Tage vor der Impfung als trächtig zugekauft wurde, war eine Behandlung mit Impfstoff C nicht vorgesehen.

Von den Kontrolltieren haben die Kühe Elster, Alanda und Zamba verworfen. Die übrigen Kühe haben normal gekalbt.

31. Bestand.

Im Bestand befinden sich 13 Tiere, von denen innerhalb der letzten 3 Monate 6 verworfen haben.

Die erste Impfung erfolgte am 28. 9., die zweite am 7. 11. 12.

Es erhalten von:

6 trächtigen Tieren	hochtragend: Kühe 5 und 7	A + S, 30 + 100 ccm
	im 2. Mon. d. Tr.: Kuh 12	A, 30 ccm
	im 2.—3. Mon. d. Trächtigk.: Kühe 1, 4 u. 8	B, 30 „
7 nichtträchtigen Tieren	Rinder 11 und 13	C, 10 ccm
	Kühe 2 und 6	A, 30 „
	Rind 10 u. Kühe 3 u. 9	B, 30 „

Am Tage nach der ersten und zweiten Impfung ging der Milchertrag der Tiere um $^1/_3$ der Tagesmenge zurück. Am 2. Tag nach der Impfung lieferten die Kühe wieder mehr Milch und am dritten wieder die normale Milchmenge.

Ergebnis: Von den geimpften Tieren verkalbte die mit Impfstoff A behandelte Kuh Nr. 12 und das mit dem Impfstoff C behandelte Rind Nr. 13, das, wie aus der Impfliste hervorging, bereits einige Tage nach der Impfung zugelassen worden war.

Von den Kontrolltieren haben die Kühe Nr. 1 und Nr. 4 verworfen. Ferner sind von den Kontrolltieren die Kuh Nr. 8, die nicht trächtig war und die Kuh Nr. 10 als güst verkauft worden.

32. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 53 Tieren zusammen, von denen 31 trächtig und 22 nichtträchtig sind. Unter den letzteren befinden sich 7 Kühe, die nach dem Verkalben und 7 Kühe, die nach normalem Abkalben noch nicht wieder gedeckt worden sind sowie 8 Starken, die in etwa 2 Monaten zugelassen werden sollen. Bis jetzt haben 11 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 10. 9. 12 und die zweite am 20. 12. vorgenommen.
Die Impfstoffe wurden auf die einzelnen Gruppen wie folgt verteilt:

10 im 1.—3. Monat trächtige Kühe	11, 3, 34, 42, 15	A, 30 ccm
	20, 16, 45, 74 und 2	B, 30 „
9 im 4.—6. Monat trächtige Kühe	1, 18, 56, 54, 73	A, 30 „
	5, 71, 76, 83	B, 30 „
12 im 7.—9. Monat trächtige Kühe	21, 26, 31, 38, 40, 6	A + S, 30 + 100 ccm
	59, 55, 72, 70, 8, 10	B, 30 ccm
7 nichtträchtige Kühe, die normal gekalbt haben	57, 60, 28, 44	C, 10 „
	51, 69, 68	B, 30 „
7 nichtträchtige Kühe, die verkalbt haben	52, 47, 80, 75	C, 10 „
	0, 7, 14	B, 30 „
8 Starken, die in 8—12 Wochen gedeckt werden sollen	R1, R2, R3, R4	C, 10 „
	R5, R6, R7, R8	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die 3 mit Impfstoff A + S geimpften Tiere 21, 38 und 40 und die 3 Kontrolltiere 14, 16 und 20 im 8. Monat der Trächtigkeit.

Die 3 mit Impfstoff A behandelten Tiere 34, 42 und 15 erwiesen sich als nichtträchtig und wurden später wegen Umrinderns verkauft.

Wegen Nichtaufnehmens mußten ferner die mit Impfstoff C behandelten Tiere 28, 44, 75 und R2 und die Kontrolltiere 0, 7, 68, 69 und R5 verkauft werden.

33. Bestand.

Im Bestand befinden sich 26 Tiere und zwar 9 trächtige und 8 nichtträchtige Kühe sowie 2 trächtige und 7 nichtträchtige Rinder im Alter von $1^1/_2$ Jahren. Während der vorletzten Trächtigkeitsperiode haben 3, während der letzten 9 Tiere verkalbt.

Die erste Impfung findet am 20. 9. 12, die zweite am 23. 11. 12 statt.

Es werden geimpft:

4 Kühe im 7. Monat der Trächtigkeit	Lena, Alma	A, 30 ccm
	Adele, Meta	B, 30 „
5 Kühe und 2 Rinder im 2.—4. Mon. der Trächtigkeit	Sabine, Erna, Leni	A, 30 „
	Selma, Minka, Olga, Dora	B, 30 „
nichtträchtige Kühe und Rinder	Sarah, Josepha, Else, Emmy	C, 10 „
	Rind I, Rind II, Rind III	A, 30 „
	Auguste, Warda, Geritje, Zilly, Franziska, Jenneke, Crema	B, 30 „

Ergebnis: 3 Monate nach der Impfung verkalbte ein Kontrolltier, die Kuh Selma im 5. Monat der Trächtigkeit. Nach Ansicht des behandelnden Kreistierarztes ist das Verwerfen bei dieser Kuh auf eine traumatische Ursache zurückzuführen. Die bakteriologischen Untersuchungen des abortierten Kalbes gab keine Anhaltspunkte für das Vorliegen einer Infektion mit dem Bangschen Bacillus.

34. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 41 Tieren zusammen. Unter diesen befinden sich 32 trächtige Kühe, 8 trächtige Färsen und eine nichtträchtige Färse, die kurz vor der Aufnahme des Bestandes verkalbt hat.

Der Besitzer gibt an, während der letzten Trächtigkeitsperiode hätten etwa 12 Tiere verkalbt, die nicht mehr einzeln namhaft gemacht werden könnten, da verschiedene Tiere verkauft worden und die Aufzeichnungen über das letzte Abkalben abhanden gekommen seien. Ein Drittel sämtlicher Kälber sei jährlich eingegangen. Der Stall sei jedes Jahr einmal mit Seifen- und Sodalauge ausgewaschen und mit Sublimat desinfiziert worden.

Auf Wunsch des Besitzers findet eine **einmalige** Impfung am 27. 9. 12 statt.

Dabei erhalten:

von 9 im 1.—3. Monat der Trächtigk. stehenden Kühen	25, 50, 51, 66, 78	C + S, 10 + 100 ccm
	72, 91, 94, 102	B, 30 ccm
von 16 im 4.—6. Monat der Trächtigk. stehenden Kühen	34, 41, 61, 62, 70, 76, 81, 82	C + S, 10 + 100 ccm
	90, 96, 98, 100, 43, 92, 103, 99	B, 30 ccm
von 7 im 7.—9. Monat der Trächtigk. stehenden Kühen	64, 79, 83, 84	C + S, 10 + 100 ccm
	95, 97, 101	B, 30 ccm
von 4 im 4.—6. Monat der Trächtigk. stehenden Färsen	6, 7	C + S, 10 + 100 ccm
	8, 9	B, 30 ccm
von 4 im 7.—9. Monat der Trächtigk. stehenden Färsen	2, 3	B + S, 10 + 100 ccm
	4, 5	B, 30 ccm
1 nichtträchtige Färse (Nr. 1), die verkalbt hat, wird geimpft mit		C, 10 „

Ergebnis: Die mit Impfstoff behandelten Tiere sowie die Kontrolltiere haben alle normal abgekalbt, dagegen haben 3 Kühe, die als trächtig neu eingestellt worden waren, im 8. Monat der Trächtigkeit verkalbt.

Der behandelnde Kreistierarzt schreibt, den größten Nutzen scheine die Impfung gegenüber dem Kälbersterben gehabt zu haben. Während nämlich in den vorhergehenden Jahren die meisten Kälber in den ersten Tagen nach der Geburt eingingen, seien in der letzten Kalbeperiode nur 10 Kälber gefallen. Der Besitzer wünsche deshalb eine nochmalige Durchimpfung des ganzen Bestandes.

Ob und inwieweit die Angaben über die günstige Wirkung der Impfstoffe gegen das Kälbersterben richtig sind oder auf Zufällen beruhen, kann nicht festgestellt werden, da in den Impflisten nähere Aufzeichnungen über die Krankheitserscheinungen und über die Todesursachen der verendeten Kälber fehlen.

Dem Wunsche des Besitzers entsprechend, wurde der Viehbestand ein Jahr nach der ersten Impfung einer nochmaligen Behandlung mit Abortusimpfstoffen unterzogen, wobei sämtliche mit dem Impfstoff C + S behandelten Tiere mit abgetöteter Kultur nachgeimpft wurden. Den Kontrolltieren wurde abermals sterile Bouillon eingespritzt. Gleichzeitig wurden verschiedene neu in den Bestand eingestellte Tiere zweimal im Abstand von vier Wochen einer Impfung unterworfen und zwar erhielten:

von 20 Kühen und Färsen im 2.—5. Monat der Trächtigkeit	104, 105, 108, 109, 162, 107, 110, 161, 111, 152	A, 30 ccm
	167, 145, 106, 133, 112, 113, 146, 153, 164, 175	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung haben die Kühe Nr. 96 (B) und 103 (B), die bereits bei der 1. Impfung im Bestande als Kontrollen dienten, ferner die Kontrolltiere 112 und 175 (B) und die mit Impfstoff A behandelte Färse 162 verkalbt. Die übrigen Tiere kalbten normal. Das Verwerfen geschah in allen Fällen im 8. Monat der Trächtigkeit. Bei sämtlichen Tieren, die verworfen hatten, blieb die Nachgeburt zurück.

35. Bestand.

Im Bestand befinden sich 24 trächtige Kühe, 1 nichtträchtige Kuh und 6 trächtige Färsen. Die Gesamtzahl der weiblichen Tiere beträgt demnach 31.

Vom Dezember 1911 bis August 1912 haben 9 Kühe verworfen. 6 Kühe, darunter 2, die verkalbt haben, rindern dauernd um.

Die erste Impfung wurde am 5. 10. 12, die zweite am 8. 12. 12 vorgenommen.

Die Impfstoffe wurden in folgender Weise verteilt:

10 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	Elly, Alwine, Rosa, Olga, Berta	C + S, 10 + 100 ccm
	Else, Anna, Thekla, Blanka, Barbara	B, 30 ccm
9 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	Flora, Agnes, Amalia, Coba	C + S, 10 + 100 ccm
	Cora, Colly, Nora, Martha, Ammanda	B, 30 ccm
5 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	Aurora, Augustine, Emma	A, 30 „
	Frieda, Alma	B, 30 „
1 nichtträchtige Kuh „Meta"		C, 10 „
6 trächtige Färsen (im 1.—3. Monat)	Clara, Teya, Franziska	C, 10 „
	Paula, Klothilde, Toma	B, 30 „

Bemerkung: Die Färsen Clara, Teya und Franziska sollten mit C + S geimpft werden und sind irrtümlicherweise nur mit lebender Kultur behandelt worden.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbte Barbara (B) nach 8½ Monate langer Trächtigkeit. Bei dieser und mehreren anderen blieb die Nachgeburt zurück. Franziska erwies sich als nichtträchtig, sie rinderte öfters und wurde schließlich wegen Nichtaufnehmens verkauft. Die übrigen Tiere nahmen normal auf und kalbten zur richtigen Zeit.

36. Bestand.

Die Gesamtzahl der Tiere, die den Impfversuchen dienten, betrug 72.

Das seuchenhafte Verkalben ist schon seit mehreren Jahren in dem Bestand beobachtet worden. Der Besitzer hat seither ohne Erfolg seine Kühe der Bräuerschen Behandlung mit Carbolsäure unterzogen. Die Zahl der früher vorgekommenen Abortusfälle ist nicht mehr genau festzustellen, da viele Kühe inzwischen verkauft worden sind. In der Bestandliste sind 6 Kühe angegeben, die 2 Jahre und 3, die 1 Jahr vor der Impfung verkalbt hatten. Während der letzten Kalbeperiode kamen 13 Fälle von seuchenhaftem Abortus vor.

In dem Bestand befindet sich durchweg hochgezüchtetes Milchvieh.

Die 1. Impfung wurde am 15. 10. 12, die 2. am 17. 12. 12 vorgenommen. Am 20. 4. 13 und 20. 5. 13 wurde ferner eine Anzahl inzwischen herangewachsener Tiere geimpft.

Die Impfstoffe wurden wie folgt verteilt:

9 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	9, 13, 36, 46, 60	C + S, 10 + 100 ccm
	105, 106, 107, 108	B, 30 ccm
9 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	67, 74, 77, 84, 87	C + S, 10 + 100 ccm
	111, 112, 113, 114	B, 30 ccm
22 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	F 45, 49, 75, 83, 86, 90, 17, 27, 73, 109, 110	A + S, 30 + 100 ccm
	120, 121, 124, 126 und F 22 91, 94, 101, 102, 103, 104	B, 30 ccm
32 nichtträchtige Kühe und Färsen	115, F 46, F 17, F 99, F 102, F 104, 88, 98, 85, 123, 125	C, 10 „
	37, 118, 119, 117, 45, 60, 94, 97, 87	A, 30 „
	F 13, F 67, F 71, F 85, F 86, 93, 96, 99, 100, F 73, F 74, F 98	B, 30 „

Bemerkung: Nach der 1. Impfung sank der Gesamtmilchertrag sehr stark. Nach 2 Tagen war die Milchergiebigkeit wieder normal.

Ergebnis: Von den mit Impfstoff geimpften Tieren verkalbte die Kuh 77 (C + S) und die Kühe Nr. 83 und 109 (A + S). Von den Kontrolltieren haben insgesamt 8 verworfen und zwar die Kühe 107, 111, 112, 94, 102 und 99 und die Färsen F 13 und F 67.

Die Kuh 107 (B) nahm später nicht mehr auf und wurde deshalb verkauft. Kuh 112 (B) mußte wegen Knochenbruchs geschlachtet und Kuh 108 (B) wegen zu geringen Milchertrags verkauft werden. Wegen Nichtaufnehmens mußten noch folgende Kontrolltiere verkauft werden: 101, 121, F 98, F 86, F 22 und F 85. Von den mit Impfstoff C behandelten Tieren wurden die Kühe 85 und 88 ebenfalls wegen Nichtaufnehmens verkauft. Die Kühe 9 (C + S) und 83 (A + S) sind verkauft worden, weil sie nach dem Abkalben zu wenig Milch gegeben haben.

37. Bestand.

Der Bestand, in dem seit 2 Jahren das seuchenhafte Verkalben herrscht, setzt sich aus 104 Tieren zusammen und zwar aus 43 trächtigen Kühen, 29 nichtträchtigen Kühen, 22 trächtigen Färsen und 10 Färsen, die erst in einigen Monaten zugelassen werden sollen.

Innerhalb der letzten 5 Monate haben 18 Kühe verkalbt, von denen 4 verkauft worden sind.

Die 1. Impfung wird am 22. 10. 1912, die 2. am 10. 2. 1912 vorgenommen.

Die Verteilung der Impfstoffe geschieht folgendermaßen:

22 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	5, 17, 60, 43, 46, 32, 39, 23, 26, 29	C + S, 10 + 100 ccm
	91, 84, 99, 100, 105, 68, 18, 36, 42, 74, 27, 82	B, 30 ccm
8 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	57, 28, 14, 69	C + S, 10 + 100 ccm
	85, 81, 104, 114	B, 30 ccm
13 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	59, 55, 58, 40, 56, 76, 87	A, 30 ccm
	86, 103, 110, 111, 122, 119	B, 30 „
29 nichtträchtige Kühe	77, 34, 61, 47, 50, 78, 72, 80, 71, 22, 63, 75, 31, 90, 102	C, 10 „
	124, 108, 900, 118, 113, 117, 92, 93, 96, 94, 97, 95, 107, 120	B, 30 „
6 Färsen im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	138, 144, 145	C + S, 10 + 100 ccm
	150, 153, 157	B, 30 ccm
2 Färsen im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	152	A + S, 30 + 100 ccm
	154	B, 30 ccm
14 Färsen im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	106, 109, 112, 115, 116, 131, 134	A + S, 30 + 100 ccm
	904, 905, 135, 139, 901, 902, 903	B, 30 ccm
10 Rinder, die in einigen Monaten zugelassen werden sollen	I, III, V, VII, IX	A, 30 „
	II, VI, IV, VIII, X	B, 30 „

Zur Impfung ist zu bemerken, daß die 17 und 34 einige Tage nach der 1. Impfung eine geringe Freßlust zeigten. Sonstige Impfschädigungen wurden nicht beobachtet.

Ergebnis: Von den mit Imfstoff C + S behandelten Tieren haben die Kühe Nr. 28 und 57 zum 2. Mal verworfen. Von den mit dem Impfstoff A behandelten Tieren haben die Kühe Nr. 40 und 58 zum 2. Mal und die Kuh 87 zum 1. Mal verworfen.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe Nr. 27, 114, 108, 118, 117 und die Färsen 903 und 904.

Die übrigen Tiere kalbten zur rechten Zeit.

Als nichtträchtig sind wegen ständigen Umrinderns die Kühe 72 und 80 (C) und die Kontrolltiere 92, 94, 97, 95, 107 und 120 verkauft worden.

2 mit Impfstoff A, 2 mit Impfstoff A + S behandelte Kühe sowie 8 Kontrolltiere haben zwar ausgetragen und normal gekalbt, die Kälber litten jedoch alle gleich nach der Geburt an starkem Durchfall. 3 dieser Tiere verendeten und 4 mußten zum Schlachten verkauft werden.

Sämtliche Fälle von Verwerfen erfolgten 2 Wochen vor Ablauf der Trächtigkeit. Bei allen Kühen, die verworfen hatten, blieb die Nachgeburt zurück.

88. Bestand.

In dem Bestand befinden sich 35 Tiere, von denen 23 trächtig sind.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht schon seit 4 Jahren in dem Bestand. Während der letzten Trächtigkeitsperiode haben 16 Kühe verkalbt.

Die 1. Impfung wurde am 4. 11. 12, die 2. am 18. 1. 13 vorgenommen.

Der Impfplan war folgender:

7 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	1, 11, 12, 23	A, 30 ccm
	12, 20, 21	B, 30 „
8 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	4, 5, 6, 7	A, 30 „
	9, 22, 27, 30	B, 30 „
8 Kühe und Rinder im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	2, 8, 10, 14	A + S, 30 + 100 ccm
	15, 17, 18, 29	B, 30 ccm
12 nichtträchtige Kühe und Rinder . .	3, 24, 25, 26, 28, 31	C, 10 „
	32, 33, 34, 35, 16, 19	B, 30 „

Ergebnis: Zwischen der 1. und 2. Impfung haben die mit Impfstoff A behandelten Kühe 1 und 7 im 5. Monat verworfen. Etwa um dieselbe Zeit haben 5 Kontrolltiere, nämlich die Kühe 21, 9, 18, 19 und das Rind 35 verkalbt. Bei sämtlichen Tieren, die verkalbten, blieb die Nachgeburt zurück.

Nach der 2. Impfung hat das Verkalben gänzlich aufgehört. Auch im 2. Jahre nach der Impfung wurden neue Fälle von seuchenhaftem Abortus nicht mehr festgestellt.

Von den normal geborenen Kälbern erkrankten verschiedene gleich nach der Geburt an Durchfall. Sämtliche Kälber sind jedoch am Leben geblieben.

Die Kühe 7 und 22 mußten später wegen Tuberkulose geschlachtet werden. Die übrigen Kühe wurden, mit Ausnahme von Kuh Nr. 1, die verkauft worden ist, alle wieder trächtig.

89. Bestand.

Der Bestand umfaßt den Viehbestand von 2 Gütern. Die Anzahl der Tiere beträgt zusammen 88. Das ansteckende Verkalben herrscht auf beiden Gütern seit ungefähr 2 Jahren. Während der letzten Trächtigkeitsperiode haben 18 Kühe verkalbt. Die Kühe rindern häufig um und die normal geborenen Kälber leiden vielfach an Durchfall.

Die Impfungen werden Mitte Oktober 1912 und Mitte Januar 1913 nach folgendem Plan vorgenommen:

I. Dominium D.

6 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	1, 7, 53	A, 30 ccm
	89, 93, 94	B, 30 „
19 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	14, 15, 24, 30, 32, 40, 60, 88, 91	A, 30 „
	121, 122, 123, 119, 113, 90, 90, 92, 96, 97, 100	B, 30 „
9 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	2, 10, 61, 87	A + S, 30 + 100 ccm
	112, 103, 109, 110, 111,	B, 30 ccm

Gruppe	Tiere	Impfstoff
8 nichtträchtige Kühe	5, 8, 9, 84	C, 10 ccm
	95, 101, 102, 104	B, 30 „
10 nichtträchtige Färsen	114, 115, 116, 117, 118	A, 30 „
	105, 106, 107, 108, 120	B, 30 „

II. Gut N. S.

Gruppe	Tiere	Impfstoff
12 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	53, 119, 44, 74, 105, 109, 117	A, 30 ccm
	107, 128, 126, 127, 125	B, 30 „
5 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	111, 118, 66	A, 30 „
	120, 80	B, 30 „
5 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	4, 49, 59	A + S, 30 + 100 ccm
	122, 129	B, 30 ccm
5 nichtträchtige Kühe und 1 Färse, die verkalbt hat	130, 131, 132	C, 10 „
	72, 123, F 6	B, 30 „
5 trächtige Färsen (im 4. Monat)	F 1, F 2, F 3	A, 30 „
	F 4, F 5	B, 30 „
3 nichtträchtige Färsen	133	C, 10 „
	F 7, F 8	B, 30 „

Anmerkung: Bei den Kühen 44, 66, 105, 109 und 111 auf Gut N. S. bildeten sich an der Impfstelle Abszesse.

Ergebnis: Auf Dominium D. verkalbten die Kontrollkühe 121 und 123 im 8. Monat der Trächtigkeit.

Die Kühe Nr. 1 und 53 (A) erwiesen sich als nichtträchtig, sie nahmen wie die Färsen 114, 115, 116, 117, 118 (A) nicht auf und wurden deshalb verkauft. Aus dem gleichen Grunde wurden die Kühe 2 (A + S) und 8 (C) veräußert.

Von den Kontrolltieren wurden wegen Nichtaufnehmens 13 Tiere, nämlich 89, 93, 94, 95, 101, 102, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 120 teils verkauft, teils zur Mast gestellt.

Auf Gut N. S. verkalbten die Kühe 118, 111 und 66 (A), 49 (A + S) und 132 (C).

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 128 und 129 und die Färsen F 6, F 5, F 7, F 8.

40. Bestand.

Der Bestand setzt sich zusammen aus 23 trächtigen Kühen, 4 nicht tragenden Kühen, 8 trächtigen Färsen, 2 nichtträchtigen Färsen und 5 nicht tragenden $1^1/_2$ Jahre alten Rindern. Die Gesamtzahl der Tiere beträgt demnach 41.

Während der letzten Trächtigkeitsperiode haben 14 Tiere verkalbt.

Die 1. Impfung wird am 25. 10. 12, die 2. am 5. 1. 13 vorgenommen.

Die Verteilung der Impfstoffe auf die Tiere der einzelnen Gruppen geschieht nach folgendem Schema:

Gruppe	Untergruppe	Tiere	Impfstoff
23 trächtige Kühe	5 im 1.—3. Monat	Ophelia, Mary, Hanna	A, 30 ccm
		Pirette, Ottilie	B, 30 „
	14 im 4.—6. Monat	Pia, Carola, Kuni, Katho, Lora, Knospe, Gisela	A, 30 „
		Kitty, Orange, Perle, Hulda, Käthe, Olga, Ola	B, 30 „
	4 im 7.—9. Monat	Paula, Pauline	A + S, 30 + 100 ccm
		Odol, Knolle	B, 30 ccm

4 nichtträchtige Kühe		Hertha, Flotte	C, 10 ccm
		Oculi, Pittje	B, 30 „
8 trächtige Kühe	2 im 1.—3. Monat	126	A, 30 „
		129	B, 30 „
	2 im 4.—6. Monat	125	A, 30 „
		135	B, 30 „
	4 im 7.—9. Monat	110, 113	A, 30 „
		114, 118	B, 30 „
2 nichtträchtige Färsen		120	C, 10 „
		115	B, 30 „
5 nichtträchtige $1^1/_2$jährige Rinder		21, 22, 23, 24, 25	C, 10 „
		Kontrollen wurden kurz vor der Impfung verkauft	

Ergebnis: Ophelia (A) hat vor der 2. Impfung im 8. Monat der Trächtigkeit verkalbt. Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren haben ferner die beiden Färsen 126 und 125 ebenfalls im 8. Monat der Trächtigkeit verworfen. Das Rind 23 (C), das nach der Impfung zu früh zugelassen worden ist, hat im 4. Monat der Trächtigkeit verkalbt.

Von den Kontrolltieren haben die Kühe Ottilie, Ola, Perle, Pittje und die Färsen 114, 115 und 118 im 6.—8. Monat der Trächtigkeit abortiert.

Fast alle Fälle von Verwerfen sind in die Zeit zwischen der 1. und 2. Impfung gefallen. Der Besitzer schreibt später, daß nach der 2. Impfung nur noch das Rind 23 (C) im August 1913 verkalbt habe und von diesem Zeitpunkt an keine Fälle von Verwerfen mehr vorgekommen seien.

41. Bestand.

Im Bestand befinden sich 10 Kühe, von denen 3 Kühe im 1.—4. Monat der Trächtigkeit stehen und 1 Kuh hochtragend ist. Von 6 nichttragenden Kühen haben 3 vor kurzer Zeit verkalbt nnd 3 normal gekalbt.

Die 1. Impfung erfolgte am 15. 8. 12, die 2. am 12. 10. 12.

Es erhalten:

1 hochtragende Kuh	Nr. 6	A + 8, 30 + 100 ccm
3 trächtige Kühe (im 1.—4. Monat)	9, 10	A, 30 ccm
	8	B, 30 „
6 nichtträchtige Kühe	2, 3, 4, 6	A, 30 „
	1, 7	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung haben noch 2 Tiere verworfen und zwar die Kuh 4 im 8. und die Kuh Nr. 7 im 9. Monat der Trächtigkeit.

Die Nachgeburt ging in beiden Fällen nach 3 Tagen ab.

42. Bestand.

Im Bestand befinden sich insgesamt 68 Tiere und zwar 34 trächtige Kühe, 14 nichtträchtige Kühe, 8 trächtige Färsen und 12 nichtträchtige Färsen.

Der seuchenhafte Abortus herrscht unter den Kühen seit 11 Monaten. In dieser Zeit sind 15 Fälle von seuchenhaftem Verwerfen vorgekommen. Fast bei allen Tieren, die kalbten, wurde das Zurückhalten der Nachgeburt beobachtet. Der Abgang der Nachgeburt erfolgte innerhalb von 8 Tagen und vielfach noch später. Die Kühe, die verworfen hatten, zeigten einen starken

Ausfluß aus der Scheide, der gewöhnlich 4 bis 5 Wochen dauerte. Die Zulassung zum Bullen war verschieden. Meistens rinderten die Kühe schon 14 Tage nach dem Verkalben, sie rinderten aber sehr oft um. Die Entwicklung der Kälber war normal. Der Stall wurde öfters mit Kreolin desinfiziert. Die Kühe, die verkalbt hatten, wurden durch Scheidenspülungen mit Lysolwasser behandelt.

Die 1. Impfung wurde am 16. 11. 12, die 2. am 15. 1. 13 vorgenommen.

Der Impfplan war folgender:

18 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	Donna, Frieda, Falke, Germania, Grete, Kranich, Lina, Liese, Amsel	A, 25 ccm
	Aal, Amalie, Amanda, Blume, Biene, Monika, Meta, Alwine, Amor	B, 30 ccm
8 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	Kreta, Drache, Falter, Haube	A, 25 „
	Krona, Leopard, Merkur, Alma	B, 30 „
8 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	Boussard, Eva, Hermine, Luise	A, 25 „
	Lesche, Minka, Adler, Adele	B, 30 „
14 nichtträchtige Kühe	Mars, Lene, Hamster, Motte, Löwe, Marie, Maud	C, 10 „
	Agnes, Asta, Bertha, Diana, Giebel, Malta, Anna	B, 30 „
12 nichtträchtige Kühe	1, 3, 5, 7, 9, 11	C, 10 „
	2, 4, 6, 8, 10, 12	B, 30 „
8 trächtige Färsen (im 1.—4. Monat) . .	13, 15, 17, 19	C, 10 „
	14, 16, 18, 20	B, 30 „

Nach einer Anmerkung auf der Impfliste sollen die meisten Kühe nach der Impfung weniger Milch geliefert und kleine Blasen an den Strichen bekommen haben.

Ergebnis: Die mit Impfstoffen behandelten Kühe und Färsen haben, soweit sie trächtig waren und trächtig wurden, alle normal abgekalbt. Von den Kontrolltieren haben 5 Kühe (Aal, Meta, Amor, Alma, Adler) und die Färse Nr. 16 verworfen.

Fast alle Kühe und Färsen rinderten öfters um. Die Kühe Falke, Lina und Liese, die mit Impfstoff A behandelt wurden und im 1.—3. Monat der Trächtigkeit stehen sollten, erwiesen sich als nicht tragend und nahmen auch nicht mehr auf. Die ebenfalls mit Impfstoff A geimpften Kühe Frieda und Kreta haben nach der Impfung normal gekalbt, aber nicht mehr aufgenommen.

Von den Kontrolltieren wurden die 6 Kühe: Monika, Amalie, Amanda, Blume, Krona und Merkur nach vielmaligem Umrindern wegen Nichtaufnehmens verkauft.

Ferner ist von den Färsen und zwar sowohl von den mit Impfstoff C geimpften Tieren, als auch von den Kontrolltieren etwa die Hälfte wegen Nichtaufnehmens verkauft worden. Die Nummern der einzelnen Tiere können jedoch nicht mehr angegeben werden.

43. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 41 trächtigen und 38 nichtträchtigen Tieren zusammen. Die Gesamtzahl der Tiere beträgt demnach 79. Bisher haben 14 Kühe verworfen. Die Kühe, die verworfen haben, stehen im Stalle nebeneinander.

Die 1. Impfung wurde am 5. 12. 12, die 2. am 30. 1. 13 vorgenommen.

Nachstehender Plan gibt eine Übersicht über die Verteilung der Impfstoffe auf die einzelnen Tiere des Bestandes:

41 trächtige Kühe	26 im 4.—6. Monat	Stumpfhorn, Lies, Höppke, Kersjes, Grete II, Laura, Tina, Hankhorn, Schnips, Delta, Krone, Fanny, 64, 65	A, 25 ccm
		Welbers, alte Grete, Nadern, Taassen, alte Lotte, gr. Bleß, kl. Bleß, 68, kl. Pollm, gr. Pollm, Meta, Elly	B, 30 „
	15 im 7.—9. Monat	Alma, Erna, Derks, Vielm, Rote, Alfe, Beth, Irma	A, 25 „
		Elly, Clara, Jette, Mörs, Mize, Ida, Hanghorn	B, 30 „
38 nichtträchtige Kühe und Färsen		69, 74, 75, 76, 79, 81, 82, 83, 84, 85, 88, 86, 90, 91, 92, 93, 97, 89, 94	C, 10 „
		62, 55, 49, 60, 67, 65, 68, 45, Emma, Jenny, 47, 48, 57, 61, Vingerhoet, Mick, Else, Schoof, Raci	B, 30 „

Bemerkung: Kuh Meta zeigte nach der Impfung Atembeschwerden.

Der Gesamtmilchertrag sank am Tage nach der Impfung auf die Hälfte und war am 2. Tage wieder normal. Sämtliche Tiere, die verworfen hatten, mit dem Kontrollimpfstoff B zu impfen, war nicht geplant. Diese Tiere sollten vielmehr gleichmäßig auf die mit C und die mit B zu impfenden Gruppen verteilt werden.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten sämtliche Kontrolltiere, die früher einmal verworfen hatten, zum zweitenmal.

Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren haben die Kühe Hankhorn und Alma im 8. Monat der Trächtigkeit und vor der 2. Impfung mit Impfstoff A verkalbt. In der zweiten auf die Impfung folgenden Trächtigkeitsperiode hat ferner die Färse 74 $2^1/_2$ Monate zu früh gekalbt. 2 mit Impfstoff C geimpfte Färsen wurden hochträchtig verkauft. Die übrigen Tiere kalbten alle normal.

44. Bestand.

Die Anzahl der Kühe beträgt 11. Färsen sind im Bestand nicht vorhanden. Von den 11 Kühen sind 7 im 7.—9. Monat trächtig und 4 nichtträchtig. Von letzteren haben 3 verworfen und 1 normal gekalbt. 1 Kuh hat 3 mal verworfen.

Die 1. Impfung erfolgte am 24. 12. 12, die 2. am 20. 2. 12.

Es erhalten:

von 7 im 7.—9. Monat der Trächtigkeit stehenden Kühen	1, 2, 5, 8	A, 100 ccm
	3, 4, 9	B, 30 „
und von 4 nichtträchtigen Kühen . .	6, 7	C, 10 „
	10, 11	B, 30 „

Ergebnis: Die Kühe Nr. 7, 8 und 4 wurden verkauft. Die übrigen Kühe haben normal gekalbt.

Umrindern wurde nicht beobachtet, die Kühe haben alle wieder aufgenommen. Die Kälber entwickelten sich gut.

45. Bestand.

In dem Bestand befinden sich 6 Kühe, von denen 3 trächtig und 3 nichtträchtig sind.
1 zur Zeit trächtige und 1 nichtträchtige Kuh hatten vor der Impfung verkalbt.
Die Impfung erfolgte am 24. 12. 12, eine 2. Impfung wurde nicht vorgenommen.
Es erhielten:

3 nichtträchtige Kühe:	1, 4 und 6	C, 10 ccm
3 trächtige Kühe (im 6.—9. Monat):	2, 3 und 5	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung wurde die Kuh Nr. 2 verkauft, die übrigen Kühe kalbten alle zur richtigen Zeit.

46. Bestand.

In dem Bestand sind 7 Tiere, von denen 1 Kuh $2^1/_2$ Monate vor Ablauf der Trächtigkeit verkalbt hat.

Die 1. Impfung wurde am 24. 12. 12, die 2. am 25. 2. 13 wie folgt vorgenommen:

3 im 5. und 7. Monat der Trächtigkeit stehende Kühe	1, 3 und 6	A, 100 ccm
4 nicht trächtige Kühe	2 und 5	C, 10 „
	4 und 7	B, 30 „

Ergebnis: Ein weiterer Fall von seuchenhaftem Verwerfen kam nicht mehr vor.

47. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 21 im 6.—8. Monat der Trächtigkeit stehenden Kühen und 8 nichtträchtigen Kühen zusammen. Die Gesamtzahl der Tiere beträgt demnach 29.

Im ganzen haben bisher 6 Kühe im 7.—8. Monat der Trächtigkeit verworfen.

Die 1. Impfung wurde am 7. 1. 13, die 2. am 16. 3. 13 vorgenommen.

Die Verteilung der Impfstoffe geschah wie folgt:

21 Kühe im 6.—8. Monat der Trächtigkeit	41, 42, 43, 44, 25, 38, 39, 32, 31, 22, 15	A, 100 ccm
	4, 36, 35, 3, 33, 2, 10, 9, 8, 40	B, 30 „
8 nichtträchtige Kühe	21, 37, 45, 46	C, 10 „
	13, 23, 14, 28	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die mit Impfstoff A behandelte Kuh 43 und die Kontrolltiere 35 und 3.

Nach Ablauf der Trächtigkeitszeit bei sämtlichen Kühen wurden Ende November 1913 alle mit Impfstoff A (100) behandelten Tiere zum 3. Mal mit diesem Impfstoff geimpft.

Nach dieser 3. Impfung verkalbte die Kuh 41 (A), während die Kuh 39 (A) etwa 14 Tage zu früh ein schwaches, aber am Leben gebliebenes Kalb warf. Von den Kontrolltieren haben die Kühe 3 und 40 abermals etwas zu früh geboren.

Der Besitzer schreibt, daß die Nachgeburt in allen Fällen glatt abgegangen sei. Die Zulassung habe zur richtigen Zeit stattgefunden. Umrindern sei nicht beobachtet worden. Die Entwicklung der Kälber sei eine sehr gute.

48. Bestand.

Im Bestand befinden sich 23 Tiere und zwar 1 trächtige Kuh, 1 nichtträchtige Kuh, 5 trächtige Färsen und 16 nichtträchtige Färsen.

Bis jetzt haben die beiden Kühe und eine auf Mast gestellte Kuh verworfen.

Die 1. Impfung wird am 18. 1. 13 und die 2. am 26. 3. 13 vorgenommen.

Es erhalten:

1 im 2. Monat der Trächtigkeit stehende Kuh, die verkalbt hat	„Vogt"	A, 100 ccm
1 Kuh ($4^1/_2$ jährig, nichtträchtig), die verkalbt hat	Nr. 189	A, 10 „

(Die Kuh 189 sollte nicht mit Impfstoff A, sondern C geimpft werden.)

5 im 4.—6. Monat der Trächtigkeit stehende Färsen	Stern, 192, 117	A, 100 ccm
	16 und 132	B, 30 „
16 nichtträchtige Färsen	27, 127, 2, 62, 3, 68, 4, 5	C, 10 „
	1, 124, 6, 47, 7, 8, 9, 10	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff behandelten Tieren verkalbten die mit Impfstoff A behandelte Kuh 189 und die mit Impfstoff C geimpfte Färse 27.

Die Kontrolltiere, soweit sie trächtig waren, trugen alle aus. Ein Teil der Kontrolltiere und ein Teil der mit Impfstoff C behandelten Färsen mußte wegen dauernden Umrinderns verkauft werden. Die betreffenden Tiere ließen sich jedoch der Zahl und der Nummer nach nicht mehr genau feststellen, da das Stallpersonal inzwischen gewechselt hatte.

Die mit Impfstoff C behandelte Färse 27, die verkalbt hat, war nach späterer Mitteilung zur Zeit der Impfung trächtig. Sie war, wie noch einige andere Färsen, auf der Weide gedeckt worden.

49. Bestand.

Die Anzahl der trächtigen und nichtträchtigen Kühe und Färsen beträgt 57. Sämtliche Tiere rindern häufig um. Eine genaue Angabe der Trächtigkeitsdauer ist deshalb bei den einzelnen Tieren nicht möglich.

Bis jetzt haben 6 Kühe verkalbt. Bei allen Kühen, die verkalbten und auch bei einem Teil der normal austragenden Kühe bleibt nach der Geburt die Nachgeburt fest.

Die 1. Impfung wird am 29. 1. 13, die 2. am 16. 3. 13 vorgenommen.

Da sich im Bestande mehrere Kühe und Färsen mit fraglicher Trächtigkeit befinden, so werden nur 2 Gruppen, 1 Gruppe der sicher trächtigen und 1 Gruppe der nichtträchtigen Tiere unterschieden.

Es erhalten:

von 35 trächtigen Kühen und Färsen	54, 11, 42, 5, 8, 63, 33, 25, 35, 31, 13, 41, 30, 62, 9, 28, 29, 77, 26	A, 100 ccm
	69, 67, 65, 66, 58, 73, 17, 57, 49, 44, 15, 61, 38, 47, 3, 34	B, 30 „
von 22 nichtträchtigen Kühen und Färsen	52, 23, 39, 27, 10, 32, 73, 18, 56, 50, 71	C, 10 „
	64, 60, 4, 75, 48, 51, 14, 45, 22, 12, 68	B, 30 „

Zur Impfung ist zu bemerken, daß die Kühe 32 und 52 fälschlicherweise mit Impfstoff C anstatt mit A und B und die Kuh 3 irrtümlicherweise mit steriler Bouillon anstatt mit C geimpft wurden.

Der behandelnde und die Impfungen ausführende Tierarzt berichtete über folgende Impfschädigungen: Bei der mit Impfstoff A geimpften Kuh Nr. 11 wurden am Tage nach der Impfung Zittern, Verminderung der Freßlust und Rückgang des Milchertrags von 17 auf 13 Liter beobachtet. Ähnliche Erscheinungen waren bei der ebenfalls mit Impfstoff A behandelten Kuh 9 festzustellen. Auch bei den Kontrolltieren 61 und 17 ging der Milchertrag am nächsten Tage um 2 Liter zurück, während er bei den Kontrolltieren 58 und bei der mit dem Impfstoff C behandelten Kuh 27 um 2 und 3 Liter gestiegen sein soll.

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbte die Kuh 26 (bei der Impfung hochträchtig) einige Tage nach der 1. Impfung. Von den mit Impfstoff C behandelten Tieren hat die Kuh 52, die bei der Impfung trächtig war, 5 Monate vor Ablauf der Tragezeit verkalbt und die Kuh 39 hat 14 Tage zu früh ein lebendes, schwach entwickeltes Kalb geboren.

Von den Kontrolltieren verkalbte die Kuh 67.

Das Umrindern dauerte nach der Impfung in dem gleichen Maße wie vor der Impfung fort. Die Nachgeburt mußte in verschiedenen Fällen manuell gelöst werden.

Wegen Nichtaufnehmens wurden verkauft 2 mit A und 2 mit C behandelte Kühe sowie 8 Kontrolltiere.

Während der zweiten, auf die Impfungen folgenden Trächtigkeitsperiode haben 2 weitere Kontrolltiere verworfen.

50. Bestand.

Im Bestand befinden sich nur 3 Tiere, nämlich 1 nichtträchtige Kuh, die verkalbt hat, 1 trächtiges $1^3/_4$ Jahre altes Rind und 1 trächtiges $1^1/_2$ Jahre altes Rind.

Die erste Impfung erfolgte am 16. 1. 12, die zweite am 14. 4. 13

Es erhielten:

1 nichtträchtige Kuh, die verkalbt hat	C,	10 ccm
1 im 6. Monat der Trächtigkeit stehendes $1^3/_4$ Jahre altes Rind	A,	100 „
1 im 3. Monat der Trächtigkeit stehendes $1^1/_2$ Jahre altes Rind	A,	100 „

Ergebnis: Ein weiterer Fall von Verwerfen kam nicht mehr vor.

51. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 43 Tieren zusammen. Unter diesen sind 22 trächtige und 13 nichtträchtige Kühe und 8 noch nicht gedeckte Rinder.

Von Ende September bis Ende Dezember 1912 sind 9 Fälle von Verwerfen vorgekommen.

Die erste Impfung erfolgte am 28. 1. 13, die zweite am 30. 3. 13.

Die Verteilung der Impfstoffe auf die einzelnen Tiere des Bestandes ist aus Nachstehendem ersichtlich:

2 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	Maiblume II	A,	100 ccm
	Paula	B,	30 „
7 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	Olga II, Ida, Thekla I, Jochem I	A,	100 „
	Thekla II, Laura, Ruth I	B,	30 „
13 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	Loscheller, Amsel, Eva, Iduna, Flocke, Maiblume I, Olga I	A,	100 „
	Sprickel, Minka, Emma, Traut I, Zelle, Traut II	B,	30 „
13 nichtträchtige Kühe	weiße Ulme, Ida II, Bella II, Alma, Zelle II, rote Ulme, Ruth II	C,	10 „
	Jochem II, Lieschen II, Selma, Ruth III, Tony, Alfa	B,	30 „
8 nichtträchtige Rinder	1, 2, 3, 4	C,	10 „
	5, 6, 7, 8	B,	30 „

Die nichtträchtigen Rinder sind hier mit laufenden Nummern aufgeführt worden, weil sie die gleichen Namen wie die betreffenden Muttertiere besitzen. Die vielfache gleiche Bezeichnung der Kühe hat zu einigen, den anfänglichen Impfplan nicht beeinflussenden Verwechselungen einzelner Tiere (z. B. Ruth II und Ruth III, Thekla I und Thekla II) Anlaß gegeben, die jedoch in obiger Aufstellung berücksichtigt worden ist.

Ergebnis: Von den mit Impfstoff C geimpften Tieren hat das Rind 3 im 7. Monat der Trächtigkeit verworfen. Das genannte Rind, das nicht zugeführt worden ist, war zur Zeit der Impfung ohne Wissen des Besitzers trächtig und ist demnach irrtümlicherweise mit lebender Kultur geimpft worden.

Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren hat Jochem I acht Tage zu früh ein lebendes und am Leben gebliebenes Kalb geboren.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kuh Jochem II und das Rind 8. Im folgenden Jahr hat das Rind 7 acht Tage zu früh ein lebendes Kalb geboren.

Kuh Selma (B), wurde auf Mast gestellt, Lieschen II (B) und Rind 5 und 6 (C) wegen Nichtaufnehmens verkauft.

52. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 23 trächtigen und 7 nichtträchtigen Kühen zusammen. Die Gesamtzahl der Tiere beträgt demnach 30.

Während der letzten 3 Monate haben 5 Kühe im 8.—9. Monat der Trächtigkeit verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 19. 2. 13, die zweite am 5. 5. 13 vorgenommen.

Die verschiedenen Impfstoffe wurden nach folgendem Plan auf die einzelnen Tiere verteilt.

2 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	Franziska II	A,	100 ccm
	Anda II	B,	30 „
5 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	Laura, Franziska, Ulme I	A,	100 „
	Perle II, Frieda	B,	30 „
16 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	Meta, Isabella, Nella, Lina, Irma, Perle I, Anda I, Herta	A,	100 „
	Ida, Ulme II, Flora, Delma, Ketta, Fiena, Lina II, Bertha	B,	30 „
7 nichtträchtige Kühe	Laura II, Schnippe, Herz, Blässe	C,	10 „
	Anna I, Klara, Anna II	B,	30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren haben die Kühe Franziska I und Franziska II 4 Wochen vor Ablauf der Trächtigkeit verworfen. Von den Kontrolltieren haben die Kühe Anda II, Fiena und Anna II im 8.—9. Monat der Trächtigkeit verkalbt.

Die Kühe Franziska II, Anda II, Franziska I und Fiena die zum erstenmal verkalbten, standen im Stall nebeneinander und mit den Kühen zusammen, die vor der Impfung abortiert hatten.

53. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 62. Von den Kühen und Rindern sind 31 trächtig und 31 nichtträchtig.

Im letzten halben Jahr sind 7 Fälle von Verwerfen vorgekommen.

Die erste Impfung erfolgte am 14. 2. 13, die zweite am 5. 5. 13.

Die Verteilung der verschiedenen Impfstoffe ist aus Nachstehendem ersichtlich.

Bemerkung: Mit den Nummern zwischen 1 und 38 sind die Kühe, mit den Nummern zwischen 39 und 64 die Rinder bezeichnet.

5 Kühe und Färsen im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	30, 32, 36	A,	100 ccm
	42, 44	B,	30 „
1 Kuh im 4. Monat der Trächtigkeit:	Kuh Nr. 27	A,	100 „
25 Kühe und Färsen im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17	A,	100 „
	29, 40, 41, 43, 45, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 28	B,	30 „

Von den 31 nichtträchtigen und noch nicht zugelassenen Rindern sollten diejenigen nichtträchtigen Kühe und Rinder, die verkalbt hatten, gleichmäßig auf die mit Impfstoff C und die mit steriler Bouillon (Kontrollimpfstoff) zu impfende Gruppe verteilt werden. Statt dessen wurden fälschlicherweise alle Tiere, die verkalbt hatten, mit dem Kontrollimpfstoff geimpft:

31 nichtträchtige Kühe u. Färsen	49, 48, 52, 53, 55, 46, 56, 57, 58, 61, 59, 62, 63, 60, 64	C,	10 ccm
	35, 37, 38, 39, 54, 50, 47, 51, 1, 2, 8, 20, 25, 33, 31, 34	B,	30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren hat die Kuh 6 drei Wochen vor Ablauf der Trächtigkeit ein totes Kalb geboren.

Von den Kontrolltieren haben die Kühe 23, 1, 34 und 38 im 8.—9. Monat der Trächtigkeit verworfen.

Die Kühe 30, 36 und 9 (A), ferner die Kühe 41 und 44 (B) haben normal ausgetragen oder sogar einige Tage länger getragen, aber tote Kälber geboren. Die Untersuchung hat ergeben, daß diese Totgeburten nicht auf eine Infektion mit dem Erreger des seuchenhaften Verkalbens zurückzuführen waren.

Von den mit C geimpften Tieren haben die Kühe 48 und 49 normal gekalbt, während die andern teils trächtig, teils nichtträchtig verkauft worden sind. Von den Kühen und Färsen, die bei der Impfung nichtträchtig waren, wurden ferner die Kontrolltiere 37, 39, 54, 50, 47 und 51 ohne Angabe des Grundes als verkauft bezeichnet.

54. Bestand.

In dem Bestand befinden sich 108 Tiere, von denen 42 trächtig und 66 nicht trächtig sind.

Das Verkalben herrscht in dem Bestand schon seit 3 Jahren. Im letzten Halbjahr haben 38 Tiere verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 19. 2. 13 vorgenommen und am 6. 5. 13 wiederholt.

Der Impfplan war folgender:

11 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	4, 27, 32, 13, 28, 48	A,	100 ccm
	75, 49, 51, 87, 84	B,	30 „
17 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	1, 2, 11, 18, 30, 38, 41, 42	A,	100 „
	54, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64	B,	30 „
14 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	12, 17, 23, 24, 39, 40	A,	100 „
	81, 82, 83, 90, 91, 92, 93, 95	B,	30 „
52 nichtträchtige Kühe und Färsen	3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22, 25, 29, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 43, 44, 45, 46, 47	A,	100 „
	80, 85, 86, 88, 89, 94, 96, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 79, 50, 52, 53, 55, 56, 65, 66, 67, 68	B,	30 „
14 noch nicht zugelassene Färsen . .	97, 98, 99, 100, 101, 102, 103	C,	10 „
	104, 105, 106, 107, 108, 109, 110	B,	30 „

Einige Tiere reagierten auf die Impfung mit Versagen des Futters, Aufblähen, Muskelzittern und Unruhe. Die Nummern dieser Tiere konnten jedoch nachträglich nicht mehr festgestellt werden.

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbten die Kühe 39, 6, 37 und 44. Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 71, 77, 56, 65 und 81 und die Färsen 107 und 109.

Über den Ablauf der zweiten auf die Impfungen folgenden Trächtigkeitsperiode konnten nähere Angaben nicht erhoben werden, da inzwischen etwa die Hälfte der Tiere verkauft worden war.

55. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 29 Tieren zusammen. Unter diesen sind 15 tragende Kühe und Rinder, 8 nichtträchtige Kühe und 8 noch nicht zugelassene Rinder.

In den letzten 5 Monaten sind 8 Fälle von Verwerfen vorgekommen. Die nichtträchtigen Kühe rindern häufig um. 6 Kühe mußten wegen Nichtaufnehmens verkauft werden.

Die erste Impfung wurde am 24. 2. 13, die zweite am 23. 4. 13 vorgenommen.

Der Impfplan war folgender:

5 Kühe im 2.—3. Monat d. Trächtigkeit	1, 2, 3	A,	100 ccm
	6, 7	B,	30 „
8 Kühe und Rinder im 7. u. 8. Monat der Trächtigkeit	4, 5, R16, R17, R18	A,	100 „
	8, R11, R12	B,	30 „
8 nichtträchtige Kühe	10, 26, 27, 28, 29	C,	10 „
	9, 13, 14	B,	30 „
8 noch nicht gedeckte Rinder . . .	21, 22, 23, 24, 25	C,	10 „
	19, 20, 15	B,	30 „

Ergebnis: Die mit dem Impfstoff A behandelten Kühe Nr. 4 und 5 haben beide 3 Monate zu früh gekalbt. Das Kalb der Kuh 4 wurde lebend geboren und ist auch am Leben geblieben, das Kalb der Kuh 5 war tot.

Von den Kontrolltieren haben die Rinder 11 und 12 und die Kuh 14 $3^1/_2$—4 Monate vor Ablauf der Trächtigkeit verkalbt.

Die Kuh 1 (A) und das Rind 17 (A) sowie die Kühe 26 und 27 (C) und die Rinder 23 und 24 (C) wurden verkauft.

56. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 16 Kühen und Rindern zusammen, von denen 8 Kühe im 1.—5. Monat der Trächtigkeit stehen, 5 Kühe nicht trächtig und 3 Rinder noch nicht zugelassen sind.

Von den 5 nichtträchtigen Kühen haben 3 im 8. Monat der Trächtigkeit verkalbt.

Die erste Impfung wird am 26. 2. 13, die zweite am 22. 4. 13 vorgenommen.

Es erhalten:

von 8 Kühen im 1.—6. Monat der Trächtigkeit	Ella, Emma, Tilla, Lina	A,	100 ccm
	Alma, Olga, Nella, Irma	B,	30 „
von 5 nichtträchtigen Kühen . . .	Erna, Meta, Frieda	C,	10 „
	Hertha, Lilly	B,	30 „
von 3 nicht zugelassenen Rindern .	Selma, Rosa	C,	10 „
	Martha	B,	30 „

Ergebnis: Die mit den Impfstoffen A und C behandelten Tiere kalbten alle normal.

Von den Kontrolltieren brachten die Kühe Nella, Hertha und das Rind Martha 4, 7 und 8 Wochen zu früh tote Kälber zur Welt.

Die Nachgeburt ging in allen 3 Fällen erst 8 Tage nach dem Verwerfen ab.

Die Kühe Tilla, Alma und Olga erwiesen sich als nichtträchtig und wurden später verkauft.

57. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 15 trächtigen und 4 nicht gedeckten Kühen, also aus 19 Kühen zusammen.

Seit 3 Monaten sind 4 Fälle von Verwerfen vorgekommen.

Die erste Impfung wurde am 13. 3. 13, die zweite am 23. 5. 13 wie folgt vorgenommen:

1 Kuh im 3. Monat der Trächtigkeit: Kuh Nr. 8		A,	100 ccm
1 Kuh im 6. Monat der Trächtigkeit: Kuh Nr. 2		A,	100 „
13 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	10, 12, 14, 6, 24, 34, 35	A,	100 „
	29, 26, 27, 30, 32, 8	B,	30 „
4 nicht gedeckte Kühe	36, 37	C,	10 „
	33, 25	B,	30 „

Ergebnis: Ein weiterer Fall von seuchenhaftem Verwerfen ist nicht mehr vorgekommen.

Die mit Impfstoff A behandelten Kühe Nr. 2, 10 und 35 sind nach der Impfung als tragend verkauft worden.

58. Bestand.

Bei der Bestandsaufnahme wurden 37 Kühe und Rinder angegeben, die für die Impfungen in Betracht kamen. In der zwischen der Bestandsaufnahme und der ersten Impfung liegenden Zeit wurden jedoch 11 Kühe und Rinder verkauft, so daß die Gesamtzahl der Tiere des Bestandes noch 26 betrug. Unter diesen waren 10 trächtige Kühe, 3 trächtige Färsen und 13 nicht gedeckte Kühe und Rinder.

In den letzten 4 Monaten hatten 5 Kühe verkalbt, 3 davon sind verkauft worden.

Die erste Impfung erfolgte am 28. 3. 13, die zweite am 23. 5. 13.

Die Verteilung der Impfstoffe ist aus nachstehendem Plan zu ersehen:

4 Kühe und Färsen im 2.—3. Monat der Trächtigkeit	56, R85	A,	25 ccm
	R86, R89	B,	30 „
3 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	68, 70	A,	25 „
	69	B,	30 „
6 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	30, 32, 55, 65	A,	25 „
	66, 67	B,	30 „
13 nicht gedeckte Kühe und Rinder	102, 104, 107, 108, 109, 110	C,	10 „
	92, 98, 100, 111, 112, 81, 82	B,	30 „

Ergebnis: Nach der Impfung hat ein Kontrolltier, die Kuh 82, im 8. Monat der Trächtigkeit verkalbt.

Die übrigen Tiere haben, soweit sie trächtig waren oder nach der Impfung aufgenommen hatten, alle normal ausgetragen.

Die Kuh Nr. 56 (A) erwies sich als nicht trächtig und wurde wie die Kühe 81 und 92 und 98 (B) wegen Nichtaufnehmens verkauft.

Das Kalb des mit Impfstoff C behandelten Rindes 104 war normal ausgetragen, ist jedoch 4 Tage nach der Geburt an Durchfall eingegangen.

59. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 9 Tieren, nämlich 6 trächtigen und 3 nichtträchtigen Kühen zusammen.

Das seuchenhafte Verwerfen hat im Oktober 1912 begonnen. Im ganzen haben 6 Tiere verkalbt, von denen 2 bereits verkauft worden sind. Die Nachgeburt mußte bei den Tieren, die verkalbt hatten, gelöst werden.

Die erste Impfung wurde am 27. 3. 13, die zweite am 16. 5. 13 vorgenommen.

Die Tiere erhielten dabei folgende Impfstoffe.

4 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	3, 4	A,	25 ccm
	5, 6	B,	30 „
1 Kuh im 4. Monat der Trächtigkeit:	Kuh Nr. 2	A,	25 „
1 Kuh im 8. Monat der Trächtigkeit:	Kuh Nr. 1	A,	25 „
3 nichtträchtige Kühe	7, 8	C,	10 „
	9	B,	30 „

Ergebnis: Alle Kühe haben normal ausgetragen. Die Kuh Nr. 5 (B) erwies sich als nichtträchtig. Sie rinderte mehrmals, nahm aber nicht mehr auf.

60. Bestand.

Der Besitzer hat zwei Güter. Auf dem einen, dem Gut B.-Hof, stehen in einem Stall, der in vier Stände geteilt ist, 27 Kühe, auf dem anderen, dem Gut G.-Hof stehen 17 Kühe und Rinder.

Von den 27 Kühen auf B.-Hof sind kurz vor der Impfung 6 Kühe, die verkalbt hatten, verkauft, und von den 17 Tieren auf G.-Hof 6 Kühe auf Mast gestellt worden.

Die Gesamtzahl der für die Impfungen in Betracht kommenden Tiere beträgt demnach 32.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht in dem Viehbestande seit Juli 1912. Bis jetzt haben 13 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 3. 4. 13, die zweite am 23. 5. 13 vorgenommen.

Der Impfplan war folgender:

I. B.-Hof.

4 Kühe im 2. u. 3. Monat d. Trächtigkeit	5, 6	A,	25 ccm
	1, 11	B,	30 „
6 Kühe im 4. Monat der Trächtigkeit	29, 19, 32	A,	25 „
	31, 33, 35	B,	30 „
8 Kühe im 7. u. 8. Monat d. Trächtigkeit	4, 7, 22, 25	A,	25 „
	16, 17, 20, 30	B,	30 „
3 nichtträchtige Kühe	18, 28	C,	10 „
	34	B,	30 „

II. G.-Hof.

4 Rinder im 8. Monat d. Trächtigkeit	36, 37	A,	25 ccm
	41, 42	B,	30 „
7 noch nicht gedeckte Rinder . . .	43, 44, 45, 46	C,	10 „
	47, 48, 49	B,	30 „

Ergebnis: 4 mit Impfstoff A behandelte Tiere (7, 22, 36 und 37), 1 mit Impfstoff C behandeltes Rind (45) und 6 Kontrolltiere haben nach der Impfung verworfen. 4 Kontrolltiere wurden wegen Nichtaufnehmens verkauft.

61. Bestand.

In dem Bestand sind 32 Kühe und Rinder, von denen 16 trächtig sind.

In den letzten Monaten sind 7 Fälle von seuchenhaftem Verwerfen vorgekommen.

Die erste Impfung wurde am 12. 3. 13, die zweite am 23. 5. 13 vorgenommen.

Die Impfstoffe wurden auf die einzelnen Tiere in folgender Weise verteilt.

7 Kühe und Rinder im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	51, 55, 53	A,	25 ccm
	23, 27, 28, 29	B,	30 „
6 Kühe und Rinder im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	34, 5, 6	A,	25 „
	30, 31, 32	B,	30 „
3 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	27, 47	A,	25 „
	33	B,	30 „
16 nichtträchtige Kühe und Rinder	2, 43, 49, 36, 20, 21, 22, 34, 35, 36	C,	10 „
	1, 40, 44, 52, 25, 26	B,	30 „

Ergebnis: In der auf die Impfung folgenden Kalbeperiode wurden 6 Fälle von seuchenhaftem Verwerfen festgestellt.

Die mit dem Impfstoff A geimpften Kühe 53 und 55 verkalbten zum erstenmal, die Kontrolltiere 28 und 25 zum erstenmal und die Kontrolltiere 29 und 26 zum zweitenmal.

5 Rinder und Kühe, die nach dem Verwerfen mit lebender Kultur geimpft worden waren, haben alle normal ausgetragen.

Das mit Impfstoff C behandelte Rind 22 wurde nichtträchtig verkauft.

62. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 13. Unter diesen sind 9 trächtige Kühe, 2 nichtträchtige Kühe und 2 noch nicht zugelassene Rinder.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht in dem Bestande seit 3 Monaten. Bis jetzt haben 3 Kühe im 8. Monat der Trächtigkeit verworfen.

Die erste Impfung wurde am 5. 4. 13, die zweite am 23. 5. 13 vorgenommen.

Die Impfstoffe wurden auf die einzelnen Tiere wie folgt verteilt:

5 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	Emma, Irma, Rosa	A, 25 ccm
	Jetta, Paula	B, 30 „
4 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	Erna, Wanda	A, 25 „
	Manda, Frida	B, 30 „
2 nichtträchtige Kühe, die verkalbt haben und 2 noch nicht zugelassene Rinder	Benjamin, Koppers	C, 10 „
	Olga, Herta	B, 30 „

Ergebnis: Die Kontrolltiere Olga und Herta haben 6 und 7 Wochen vor Ablauf ihrer Trächtigkeit tote Kälber geboren. Die übrigen Tiere kalbten zur richtigen Zeit.

63. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 38 Tieren, und zwar aus 21 Kühen und 17 Rindern im Alter von $1^1/_2$ bis 2 Jahren zusammen. 9 Kühe und 12 Rinder sind trächtig.

Seit 3 Monaten herrscht in dem Bestande das seuchenhafte Verwerfen. Im ganzen haben bis jetzt 12 Tiere verkalbt, von denen 8 verkauft worden sind.

Die erste Impfung wurde am 27. 4. 13, die zweite am 16. 6. 13 vorgenommen.

Der Impfplan, in dem die Kühe mit Namen, die Rinder mit Nummern aufgeführt sind, gibt eine Übersicht über die Verteilung der Impfstoffe auf die einzelnen Tiere.

11 Tiere im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	Undine, 118, 120, 127, 128, 133	A, 25 ccm
	117, 119, 122, 125, 131	B, 30 „
2 Tiere im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	Auguste	A, 25 „
	132	B, 30 „
8 Tiere im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	Adele, Bella, Betty, Bursa	A, 25 „
	Braut, Amanda, 116, 134	B, 30 „
17 nichtträchtige Tiere	Camilla, Cyane, Clothilde, Cludia 129, 135, 136, 138	C, 10 „
	Ceres, Viktoria, Ute, Saba, Alma, Berta, Cora, Cilla, Ceder	B, 30 „

Ergebnis: Das bei der Bestandsaufnahme als noch nicht gedeckt bezeichnete Rind 136 hat am 13. 6. 13, also 7 Wochen nach der Impfung mit lebender Kultur, verworfen. Daraus ist mit Sicherheit zu schließen, daß das genannte Rind, das frühestens 8 Wochen nach der Impfung belegt werden sollte, bei der Vornahme der Impfung trächtig war, also fälschlicherweise mit lebender Kultur behandelt wurde.

Das Rind 133, das mit abgetöteter Kultur behandelt worden war, hat 8 Tage zu früh ein lebendes und am Leben gebliebenes Kalb geboren.

Die übrigen mit Impfstoffen behandelten Tiere haben alle normal gekalbt, während 11 Kontrolltiere, nämlich die Tiere 117, 119, 122, 125, 132, 116, 134, Ceder, Ceres, Viktoria und Saba verworfen haben.

Über den Ablauf der zweiten Trächtigkeitsperiode nach der Impfung ist nichts Näheres bekannt geworden.

64. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 6 trächtigen Kühen, 5 nichtträchtigen Kühen, 5 trächtigen Rindern und 4 nichtträchtigen Rindern, also aus insgesamt 20 Tieren zusammen.

Der seuchenhafte Abortus herrscht in dem Bestande seit 4 Monaten. Während dieser Zeit haben 5 Kühe und 1 Rind verworfen.

Die erste Impfung wurde am 25. 4. 13, die zweite am 25. 6. 13 ausgeführt.

Die Impfstoffe wurden in folgender Weise verteilt:

3 Tiere im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	Erna, Hertha	A, 25 ccm
	2	B, 30 „
4 Tiere im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	Hilda, Emma	A, 25 „
	Rosa, Lisa	B, 30 „
4 Tiere im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	3, 4	A, 25 „
	5, 6	B, 30 „
9 nichtträchtige Kühe und Rinder	Ida, Irma 8, 9, 20	C, 10 „
	7, Rotschild, Ella, Laura	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung haben 5 Tiere verkalbt, und zwar die mit abgetöteter Kultur behandelte Kuh Hertha im 8. Monat der Trächtigkeit, die mit Impfstoff C geimpfte Kuh Ida im 5. Monat und die 3 Kontrolltiere Rotschild, Laura und Rind 6 im 8. Monat der Trächtigkeit.

In der zweiten auf die Impfungen folgenden Trächtigkeitsperiode hat die Kuh Emma 3 Wochen zu früh ein lebendes und auch am Leben gebliebenes Kalb geboren.

In sämtlichen Fällen von seuchenhaftem Verwerfen blieb die Nachgeburt 8 bis 9 Tage lang fest.

65. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 12 nichtträchtigen Kühen zusammen, von denen 7 vor 1—2 Monaten verkalbt und 5 normal ausgetragen haben.

Der behandelnde Tierarzt gibt folgenden Vorbericht: „Die Nachgeburt bleibt bei den Tieren, die verkalbt haben, bis zum 9. Tage zurück. Die Tiere wurden seit längerer Zeit mit Kreolinausspülungen und Desinfektion der Scham und des Schwanzes mit Vaginalsalbe und Dr. Feesers Vaginalpastillen behandelt. Die Jaucherinnen wurden ebenfalls desinfiziert. Der Scheidenausfluß trat in verschiedener Stärke auf. Sämtliche Tiere sollen neuen Bullen zugeführt werden. Die ausgetragenen Kälber waren sehr gut entwickelt, während die verworfenen entweder totgeboren wurden oder 1—3 Tage nach der Geburt starben.

Die Impfung erfolgte am 17. 4. 13. Eine Wiederholung der Impfung fand nicht statt, da nur der Impfstoff C angewandt worden war.

Es erhielten:

von 12 nichtträchtigen Kühen	Frieda, Herta, Nora, Alma, Ella, Blanka	C, 10 ccm
	Franka, Selma, Erna, Minka, Nella, Emma	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbte die Kontrollkuh „Selma" zum zweitenmal. Die Kuh „Franka" nahm nicht mehr auf und die übrigen Tiere trugen aus.

66. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 31. Unter diesen befinden sich 14 trächtige Kühe, 14 nichtträchtige Kühe, 1 noch nicht gedecktes Rind und zwei zur Mast gestellte Kühe.

Vor 4 Monaten kam der erste Fall von seuchenhaftem Verwerfen vor. Seit dieser Zeit haben neun Tiere verkalbt.

Die erste Impfung erfolgte am 3. 5. 13, die zweite am 19. 6. 13.

Nachstehender Plan gibt eine Übersicht über die Impfung und über den Stand des seuchenhaften Verkalbens vor und nach der Impfung.

14 trächtige Kühe	im 1.—3. Monat	1, 16	A, 25 ccm
		31	B, 30 „
	im 4.—6. Monat	5	A, 25 „
		9	B, 30 „
	im 7.—9. Monat	8, 10, 14, 17, 18	A, 25 „
		25, 26, 27, 28	B, 30 „
15 nichtträchtige Tiere		2, 4, 11, 19, 20, 21, 23, 24	C, 10 „
		3, 7, 12, 13, 15, 22, 29	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die Kühe 8 und 10, die mit Impfstoff A geimpft worden waren, und die Kontrolltiere 31, 9 und 15.

Das Kontrolltier 22 nahm nicht mehr auf und die mit lebender Kultur behandelte Kuh 11 wurde wegen Umrinderns verkauft.

67. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 40 und zwar 33 trächtige und 7 nichtträchtige Kühe.

In den letzten 7 Monaten haben 9 Kühe verworfen. Bei den Tieren des Bestandes wurden häufig Zurückbleiben der Nachgeburt und schwere Gebärmutterentzündungen beobachtet, von denen einige tödlich verliefen. Von den Kühen, die verworfen haben, rinderten 7 öfters um, während zwei weißen Fluß haben.

Die erste Impfung wurde am 22. 4. 13, die zweite am 13. 6. 13 nach folgendem Plan vorgenommen.

13 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	7, 5, 34, 40, 44, 29	A, 25 ccm
	19, 41, 11, 6, 43, 25	B, 30 „
7 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	23, 20, 22, 30	A, 25 „
	8, 16, 37	B, 30 „
13 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	24, 18, 32, 12, 10, 21, 3	A, 25 „
	9, 36, 38, 39, 4, 13	B, 30 „
7 nichtträchtige Kühe	17, 49, 1, 35	C, 10 „
	14, 2, 28, 33	B, 30 „

Ergebnis: Nach der Impfung haben 8 Tiere verkalbt und zwar die mit Impfstoff A geimpfte Kuh 20 und die Kontrolltiere 19, 11, 6, 43, 8, 9, 13 und 33. Die Kuh 28 nahm nicht mehr auf und wurde mit 6 anderen Kontrolltieren verkauft.

68. Bestand.

Im Bestand befinden sich 3 trächtige Kühe, 4 nichtträchtige Kühe, 1 trächtiges und 1 noch nicht zugelassenes Rind, also insgesamt 9 Tiere.

Mehrere Tiere, die verkalbt hatten, wurden abgeschafft und durch andere ersetzt. Die genaue Zahl der vorgekommenen Abortusfälle ist in der Bestandsliste nicht angegeben. Es wird vielmehr nur 1 Tier bezeichnet, das vor 2 Monaten verkalbt hat. Im Bestand soll eine eigenartige und schwere Euterentzündung herrschen, die ebenfalls ansteckenden Charakter trägt.

Die erste Impfung wurde am 22. 4. 13, die zweite am 5. 6. 13 nach folgendem Plan vorgenommen:

4 Tiere im 1. u. 2. Monat d. Trächtigkeit	Laura, Schimmel	A, 25 ccm
	Roter Stern, Schnippe	B, 30 „
5 nichtträchtige Tiere	Schwarzer Stern, Lieschen, Schmitz	C, 10 „
	Baning, Bleß	B, 30 „

Ergebnis: Ein weiterer Fall von Verwerfen kam nicht mehr vor. Sämtliche Rinder nahmen auch zur richtigen Zeit wieder auf. Der Gesundheitszustand der Kälber ließ jedoch sehr zu wünschen übrig. Es blieben nur die Kälber von Laura, Schimmel, Roter Stern und Lieschen am Leben. Die übrigen Kälber, darunter alle Kälber der Kontrolltiere, gingen an Durchfall ein.

69. Bestand.

Der Bestand setzt sich zusammen aus 15 trächtigen Kühen, 3 nicht gedeckten Kühen und 7 trächtigen Färsen. Die Anzahl der Tiere beträgt demnach 25.

Während der letzten 7 Monate haben 7 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 30. 4. 13, die zweite am 19. 6. 13 ausgeführt.

Der Impfplan war wie folgt:

10 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	6, 7, 8, 11, 12	A, 25 ccm
	9, 10, 13, 14, 15	B, 30 „
5 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	1, 2, 3	A, 25 „
	4, 5	B, 30 „
7 Färsen im 2.—4. Monat d. Trächtigkeit	19, 20, 21, 22	A, 25 „
	23, 24, 25	B, 30 „
3 nicht gedeckte Kühe	17	C, 10 „
	16, 18	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff behandelten Tieren verkalbten die Kühe 1, 20 und 21 (A) im 8. und die Kuh 17 (C) im 6. Monat der Trächtigkeit. Da letztere am 15. November 13 verkalbte, so ist bestimmt anzunehmen, daß sie entgegen der Angabe in der Bestandsliste bei der Vornahme der Impfung trächtig war und somit fälschlicherweise mit lebender Kultur geimpft wurde.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 10, 13, 5 und 16.

Bei sämtlichen Kühen, die verkalbt hatten, blieb die Nachgeburt 7—14 Tage fest.

70. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 23 Tieren, nämlich aus 11 trächtigen Kühen, 5 trächtigen Färsen und 8 nicht gedeckten Kühen zusammen.

Das seuchenhafte Verwerfen herrscht in dem Viehbestande seit 9 Monaten. Während dieser Zeit haben 7 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung fand am 29. 4. 13, die zweite am 18. 6. 13 statt.

Der Impfplan war folgender:

11 Tiere im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	9, 10, 11, 12, 13	A, 25 ccm
	19, 20, 21, 22, 23, 15	B, 30 „
4 Tiere im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	17, 18	A, 25 „
	14, 16	B, 30 „
8 nicht gedeckte Tiere	5, 6, 7, 8	C, 10 „
	1, 2, 3, 4	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit dem Impfstoff A behandelten Tieren verkalbten die Kühe Nr. 18 und 17 zum zweitenmal.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Färsen 20, 21, 22, 23 und 15 und die Kühe 17, 18 und 16. Die letztere verwarf zum drittenmal.

Zwei Kontrolltiere 14 und 19 wurden tragend verkauft.

Die Nachgeburt blieb in allen Fällen von Verwerfen 7—14 Tage fest. Bei den Kühen 16, 17 und 18 mußte sie künstlich entfernt werden.

71. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 27 trächtigen Kühen, 10 nichtträchtigen Kühen und 6 noch nicht zugelassenen Rindern zusammen. Die Gesamtzahl beträgt demnach 43.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht in dem Bestand seit 3 Jahren. In den letzten Monaten haben 16 Kühe verworfen.

Sämtliche Kühe sind außerdem noch mit dem ansteckenden Scheidenkatarrh behaftet.

Der Stall ist vor 2 Monaten nach der Behandlung der Tiere gegen den ansteckenden Scheidenkatarrh gründlich desinfiziert worden.

Bei sämtlichen Tieren, die verkalbt haben, ist die Nachgeburt festgeblieben. Viele Kühe, darunter auch solche, die zur richtigen Zeit kalbten, haben öfters umgerindert.

Die erste Impfung fand am 6. 5. 13 und die zweite am 23. 6. 13 nach folgendem Impfplan statt.

8 Kühe im 1.—3. Monat d. Trächtigkeit	41, 14, 43, 9	A, 25 ccm
	42, 21, 33, 27	B, 30 „
17 Kühe im 4.—6. Monat d. Trächtigkeit	34, 40, 4, 15, 38, 25, 16, 7, 11	A, 25 „
	26, 46, 8, 45, 30, 32, 23, 10	B, 30 „
2 Kühe im 7.—9. Monat d. Trächtigkeit	22	A, 25 „
	28	B, 30 „
10 nichtträchtige Kühe	3, 19, 37, 18, 2	C, 10 „
	39, 12, 24, 20, 36	B, 30 „
6 noch nicht zugelassene Rinder . .	F1, F2, F3	C, 10 „
	F4, F5, F6	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbten die Kühe 40 und 16 zum zweitenmal und von den mit Impfstoff C geimpften Tieren die Kuh 3 ebenfalls zum zweitenmal.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 21, 46, 30 zum zweitenmal und die Kuh 10 zum erstenmal.

Die mit Impfstoff A behandelten Kühe 22, 7 und 38 und die mit Impfstoff C behandelte Kuh 18 sowie die Kontrolltiere 12, 24, 26, 27, 33 und 42 wurden teils vor dem Abkalben, teils in nichtträchtigem Zustand verkauft. Sämtliche mit lebender Kultur geimpften Tiere haben mehrmals umgerindert.

72. Bestand.

Der Viehbestand setzt sich aus 7 trächtigen Kühen, 6 nichtträchtigen Kühen, 5 noch nicht gedeckten Rindern und 4 Stück Jungvieh unter 1 Jahr zusammen. Die Gesamtzahl der Tiere beträgt demnach 22.

Bis jetzt kamen 2 Fälle von seuchenhaftem Verwerfen vor.

Die erste Impfung wurde am 19. 5., die zweite am 26. 6. 13 vorgenommen.

Die Impfstoffe wurden in folgender Weise verteilt:

7 trächtige Kühe	5 im 4.—6. Monat . .	Nelchen, Schimmel, Fuchsen	A, 50 ccm
		Blümchen, Edelweiß	B, 30 „
	2 im 7.—9. Monat . .	Nicka	A, 50 „
		Traube	B, 30 „
6 nichtträchtige Kühe		Trude, Maiblume, Bella	C, 10 „
		Kleinot, Katze, Stern	B, 30 „
5 noch nicht gedeckte Rinder		Lottchen, Nickel, Rösel	C, 10 „
		Lilly, Sternchen	B, 30 „
4 Rinder unter 1 Jahr		Heimchen, Kätzchen	C, 10 „
		Prinzeß, Heidi	B, 30 „

Ergebnis: Die mit Impfstoff A geimpfte Kuh Nicka hat im 8. Monat der Trächtigkeit verworfen. Bei Traube uud Katze ist die Nachgeburt festgeblieben. Sämtliche übrigen Kühe und Rinder haben normal gekalbt. Die Kälber haben sich alle gut entwickelt.

73. Bestand.

In der Bestandsliste sind 28 Tiere angegeben. Vor der Impfung wurden jedoch noch 4 Tiere verkauft, so daß in der Impfliste nur noch 24 Tiere aufgeführt waren. Von diesen waren bei Vornahme der Impfungen 18 trächtig und 6 nichtträchtig.

Das seuchenhafte Verwerfen herrscht in dem Bestande seit 6 Monaten. In dieser Zeit haben 8 Kühe verworfen.

Die erste Impfung erfolgte am 10. 6. 13, die zweite am 14. 7. 13 nach folgendem etwas abgeänderten Plan:

16 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	64, 63, 71, 68, 69, 74, 85, Alma	A, 50 ccm
	Lotte, Irma, Herta, Rosa, Hulda, Blume, Else, Paula	B, 30 „
2 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	Antonie	A, 50 „
	Emma	B, 30 „
6 Kühe und Rinder, die nicht trächtig sind	73, 83	C, 10 „
	Ata, Horta, Frieda, Ana	B, 30 „

Bemerkung: Die Verteilung der Impfstoffe entspricht nicht ganz unserem ursprünglichen, vom behandelnden Tierarzt abgeänderten Plan, der die Kontrollimpfung auch bei den Rindern vorgesehen hatte. Die mit Zahlen bezeichneten Tiere sind Rinder, die mit Namen aufgeführten Tiere Kühe. Von der dritten Gruppe sind 1 Kuh und 2 Rinder, die mit lebender Kultur geimpft werden sollten, vor der Impfung verkauft worden.

Ergebnis: Nach der Impfung verkalbten die Kontrolltiere Herta, Rosa, Hulda und Ata.

74. Bestand.

In dem Viehbestand wurden fortlaufend sämtliche Kälber einige Zeit nach der Geburt mit lebender Kultur behandelt. Da jedoch wegen Ausbruch des Krieges die Impfungen der Kälber nicht mehr weiter verfolgt werden konnten, so sind sie in der allgemeinen Zusammenstellung der Impfergebnisse nicht berücksichtigt worden.

Bei Aufnahme des Bestands befanden sich in diesem 41 Kühe und Färsen und zwar 25 trächtige Kühe, 6 nichtträchtige Kühe und 10 tragende Färsen.

Das Verkalben herrscht in dem Bestand schon seit einigen Jahren. Viele Kühe, die verkalbt haben, sind schon verkauft worden. In den letzten 7 Monaten haben 15 Kühe verkalbt. Kühe, die als trächtig zugekauft worden waren, haben regelmäßig vollends ausgetragen und das nächste Mal verworfen. Unter Beachtung dieser Erfahrungen wurden vom Besitzer die Kühe 50, 60, 56, 57, 58, 59 und 61 als solche bezeichnet, die neueingestellt, voraussichtlich in den nächsten 6 Monaten verkalben.

Über den Abgang der Nachgeburt, Ausfluß aus der Scheide u. a. m. bestehen keine Aufzeichnungen. Mehrere Kühe rindern öfters um.

Sämtliche trächtige Tiere wurden bisher mit Carbolsäure nach den Angaben von Bräuer behandelt. Der Stall wird in der Woche zweimal desinfiziert. Bei Kühen, die verkalbt haben, werden Scheidenspülungen angewandt.

Die erste Impfung wurde am 13. 8., die zweite am 15. 9. nach folgendem Plan vorgenommen:

11 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	12, 16, 31, 47, 50, 60	A, 50 ccm
	56, 57, 58, 59, 61	B, 30 „
9 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	25, 48, 2, 13, 14	A, 50 „
	46, 45, 9, 44	B, 30 „
5 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	24, 1, 10	A, 50 „
	4, 19	B, 30 „
6 nichtträchtige Kühe	43, 49, 17	C, 10 „
	3, 6, 23	B, 30 „
10 Färsen im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	30, 33, 62, 64, 65	A, 50 „
	29, 34, 35, 36, 63	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbten die Kühe 50 und 25 und die Färsen 33 und 62. Von den Kontrolltieren haben die Kühe 61, 23 und die Färse 63 verworfen.

Die Kontrolltiere 46 und 23 wurden wegen Nichtaufnehmens und die mit Impfstoff A behandelte Kuh 10 wegen Tuberkulose verkauft und geschlachtet.

Die übrigen Kühe und Färsen kalbten alle normal. Einige Kälber erkrankten nach der Geburt an Durchfall, entwickelten sich später aber gut.

Zurückhalten der Nachgeburt wurde bei mehreren Kühen beobachtet.

Nachdem die Ergebnisse der Impfungen vorlagen, wurden Mitte 1914 sämtliche Kontrolltiere und die wenigen mit Impfstoff behandelten Tiere, die verworfen hatten, mit Impfstoff A nachgeimpft. Ferner wurden von da ab fortlaufend sämtliche Kälber einige Zeit nach der Geburt mehrmals mit abgeschwächter Kultur behandelt. Was die Impfungen der Kühe mit abgetöteter Kultur betrifft, so hatten sie nach Angabe des Besitzers den Erfolg, daß bis Mitte 1917 keine Fälle von seuchenhaftem Abortus mehr vorkamen. Ob späterhin wieder Fälle von Verwerfen beobachtet wurden, ist nicht bekannt geworden.

75. Bestand.

Im Bestand befinden sich 31 trächtige Kühe, 3 nichtträchtige Kühe und 7 noch nicht gedeckte $1\frac{1}{2}$ Jahre alte Rinder, also insgesamt 41 Tiere, die dem Immunisierungsverfahren unterworfen werden sollen.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht in dem Viehbestande seit 6 Monaten. Bis jetzt haben 6 Tiere verworfen und bei 2, die bei der Aufnahme des Bestandes starken Ausfluß aus der Scheide zeigen, ist anzunehmen, daß sie in einigen Tagen verwerfen.

Die erste Impfung wurde am 5. 9. 13, die zweite am 18. 10. 13 nach folgendem Plan vorgenommen:

6 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	56, 61, 66	A, 50 ccm
	88, 94, 175	B, 30 „
12 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	46, 64, 73, 77, 80, 70	A, 50 „
	82, 83, 85, 89, 93, 95	B, 30 „
13 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	65, 72, 74, 164, 168, 91	A, 50 „
	92, 84, 167, 173, 169, 156, 172	B, 30 „
3 nichttragende Kühe	87, 62	C, 10 „
	75	B, 30 „
7 noch nicht gedeckte Rinder	188, 189, 190, 197	C, 10 „
	196, 198, 193	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A geimpften Tieren verkalbten die Kühe 73 und 77 zum zweitenmal und die Kuh 72 zum erstenmal.

Von den Kontrolltieren kalbten die Kühe 175, 94 und 89 zu früh.

Ferner hat die mit Impfstoff C behandelte Färse 190 einige Wochen zu früh ein totes Kalb geboren. In letzterem Fall konnte nicht genau festgestellt werden, ob das genannte Tier auch wirklich in nichtträchtigem Zustand geimpft worden war, da die Impfliste eine Angabe über den Zeitpunkt des Verwerfens nicht enthielt.

Die Kälber der Kühe 46, 56, 61 und 93 sind an Ruhr eingegangen.

Die Kühe 62 (C) und 88 (B) blieben güst und sind geschlachtet worden. Die Kühe 156 (B) und 75 (B) wurden wegen Nichtaufnehmens verkauft und die Kuh 173 und das Rind 198 sind verendet.

Über den Ablauf der zweiten auf die Impfungen folgenden Trächtigkeit konnten nähere Ermittlungen nicht mehr angestellt werden.

76. Bestand.

Der Bestand setzt sich aus 16 trächtigen und 4 nichtträchtigen Kühen zusammen. Die Anzahl der Tiere beträgt demnach 20.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht in dem Bestand seit 3 Monaten. Im ganzen haben seither 4 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung erfolgte am 6. 9. 13, die zweite am 12. 10. 13.

Die Verteilung der Impfstoffe auf die einzelnen Tiere ist aus nachstehender Aufstellung zu ersehen:

7 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	66, 72, 77, 78	A, 50 ccm
	80, 93, 99	B, 30 „
7 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	64, 81, 83, 85	A, 50 „
	95, 96, 97	B, 30 „
2 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	79	A, 50 „
	84	B, 30 „
4 nichtträchtige Kühe	88, 98	A, 50 „
	89, 92	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren haben nach der Impfung verworfen die Kühe 72, 77, 78 und 81.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 92, 93, 95 und 97.

Die Kuh 84 (B) wurde tragend verkauft.

Bei sämtlichen Kühen, die verkalbt hatten, blieb die Nachgeburt längere Zeit fest.

Die ausgetragenen Kälber haben sich alle gut entwickelt.

Über den Verlauf der zweiten, auf die Impfungen folgenden Trächtigkeitsperiode, konnten keine näheren Erhebungen mehr angestellt werden.

77. Bestand.

Der Viehbestand setzt sich aus 42 Tieren zusammen und zwar aus 20 trächtigen Kühen, 7 nichtträchtigen Kühen, 11 tragenden Rindern und 4 noch nicht zugelassenen Jungrindern im Alter von $^1/_2$ Jahr.

Seit 2 Monaten herrscht das seuchenhafte Verkalben in dem Bestande. Bis jetzt haben 5 Tiere verkalbt, von denen 2 verkauft worden sind.

Die erste Impfung wurde am 10. 9. 13, die zweite am 24. 10. 13 vorgenommen.

Die Verteilung der Impfstoffe geschah in folgender Weise:

7 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	1, 62, 85, 64	A, 50 ccm
	59, 63, 84	B, 30 „
7 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	90, 80, 45	A, 50 „
	61, 72, 58, 83	B, 30 „
6 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	87, 79, 17	A, 50 „
	50, 91, 78	B, 30 „
7 nichtträchtige Kühe	81, 82, 88	C, 10 „
	60, 67, 73, 86	B, 30 „
11 trächtige Rinder (im 4.—6. Monat)	36, 38, 32, 46, 56, 44	A, 50 „
	59, 41, 39, 33, 40	B, 30 „
4 nichtträchtige Jungrinder	R 1, R 2, R 3, R 4	C, 10 „
	Kontrolltiere wurden verkauft.	

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verwarf die Kuh 80, während von den Kontrolltieren die Kühe 59, 58, 61 und 50 verkalbten.

Die Kuh 86 wurde wegen Nichtaufnehmens an den Schlächter verkauft.

In nichtträchtigem Zustande wurden ferner verkauft die Kontrolltiere 40, 41 und 78 und die mit Impfstoff C behandelten Jungrinder R 1, R 2, R 3 und R 4.

Als trächtig wurden endlich die mit Impfstoff A behandelten Tiere 36, 56 und 87 veräußert.

78. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 53, davon sind 38 trächtig.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht unter den Tieren des Bestandes seit längerer Zeit. Während der letzten Kalbeperiode haben 15 Kühe verworfen.

Die erste Impfung wurde am 15. 11. 13, die zweite am 17. 12. 13 nach folgendem Plan vorgenommen:

16 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	61, 71, 81, 82, 83, 84, 91, 93	A, 50 ccm
	26, 54, 99, 104, 108, 525, 527, 528	B, 30 „
14 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	33, 38, 40, 41, 48, 53, 58	A, 50 „
	12, 16, 18, 20, 21, 24, 25	B, 30 „
8 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	2, 6, 19, 29	A, 50 „
	10, 11, 13, 17	B, 30 „
15 nichtträchtige Kühe und Rinder . .	94, 97, 106, 107, 109, 14, 15	A, 50 „
	532, 534, 535, 536, 537, 538, 554, 31	B, 30 „

Bemerkung: Von den Kühen, die verworfen hatten, ist ein Teil bereits verkauft worden.

Der Besitzer berichtete in der Impfliste, daß alle mit Impfstoff A geimpften Kühe in den ersten 36 Stunden nach der Impfung sehr stark in der Milchleistung zurückgegangen seien. Auch bei den mit B geimpften Kühen sei der Milchertrag geringer, jedoch nicht so niedrig gewesen wie bei den mit Impfstoff A behandelten. Am dritten Tage nach der Impfung habe die Milchmenge wieder ihre frühere Höhe erreicht gehabt.

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbten die Kühe 58, 6, 19, 94, von den Kontrolltieren die Kühe 108, 528, 16, 24, 25, 17, 535 und 31.

79. Bestand.

Der Viehbestand, der sich auf 2 Höfe, den N-Hof und den M-Hof verteilt, setzt sich aus 62 Tieren zusammen, von denen 47 trächtig sind.

Über den Stand des seuchenhaften Verkalbens schreibt der behandelnde Tierarzt: „Die Tiere, die sich auf dem N-Hof befinden, zeigten im Frühjahr Erscheinungen, die den Verdacht auf ansteckenden Scheidenkatarrh erweckten, der durch das stark auftretende Umrindern bestärkt wurde. Einzelne Tiere haben bis 8 mal in Zwischenräumen von 2 bis 8 Wochen umgerindert. Die für einige Wochen angeordnete Salbenbehandlung bewirkte ein Aufhören des Umrinderns. Die erste Blutuntersuchung, die im Juni d. J. im Laboratorium S. in L. vorgenommen worden ist, ergab das Vorliegen des seuchenhaften Verkalbens. Das Verwerfen ist ganz vereinzelt aufgetreten. Im ganzen haben bis jetzt 13 Tiere verworfen.

Die Kälber haben sich im allgemeinen gut entwickelt.

Zurückbleiben der Nachgeburt wurde nicht beobachtet.

Die Bullen befinden sich tagsüber mit den Kühen zusammen auf der durch einen Zaun abgeschlossenen Düngerstätte des Hofes.

Die Jauchrinnen des Stalles wurden zu wiederholten Malen mit Kreolinlösung durchgespült."

Die erste Impfung des Bestandes wurde am 10. 12. 13, die zweite am 15. 1. 14 nach folgendem Plan vorgenommen:

14 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	23, 25, 44, 55, 95, 96, 141, 158, 193	A, 50 ccm
	1, 30, 54, 56, 57	B, 30 „
15 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	197, 167, 229, 230, 240, 865, 151, 172	A, 50 „
	166, 90, 98, 103, 105, 124, 134	B, 30 „
18 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	177, 183, 138, 139, 152, 163	A, 50 „
	241, 242, 156, 168, 171, 173, 169, 180, 213, 218, 231, 239	B, 30 „

15 nichtträchtige Kühe und Rinder	205, 597, 681, 756, 949, 1060, 1086	A, 50 ccm
	17, 31, 154, 155, 61, 863, 1030, 1078	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbte die Kuh 167. Die gleichfalls mit Impfstoff A behandelten Tiere 177, 138, 152, 205, 681, 1060 und 55 haben 2—15 Tage zu früh lebende und am Leben gebliebene Kälber geboren.

Von den Kontrolltieren verkalbten die Kühe 90, 180, 213, 218 und 155 im 6.—8. Monat der Trächtigkeit.

Wegen Nichtaufnehmens mußten verkauft werden: die mit Impfstoff A geimpften Kühe 95, 96, die sich als nicht tragend erwiesen hatten, und die Kuh 597, sowie die Kontrolltiere 17, 154, 61, 1030, 1078, 30 und 56.

Des weiteren mußte die Kuh 168 wegen Tuberkulose geschlachtet werden und endlich sind die Kühe 31 und 57 verendet.

Es konnte demnach von 4 mit Impfstoff A behandelten Tieren und 10 Kontrolltieren ein Ergebnis nicht gewonnen werden.

80. Bestand.

Die Anzahl der Tiere beträgt 109. Der Bestand setzt sich aus 63 trächtigen Kühen, 6 Kühen, die vor kurzem verworfen haben und 40 nicht tragenden Kühen und Färsen zusammen.

Das seuchenhafte Verkalben herrscht in dem Bestande seit 3 Jahren. Während der letzten 8 Monate haben 16 Kühe verkalbt.

Die erste Impfung wurde am 1. 12. 13, die zweite am 16. 1. 14 nach folgendem Plan vorgenommen:

7 Kühe im 1.—3. Monat der Trächtigkeit	1, 12, 15, 86	A, 50 ccm
	25, 46, 63	B, 30 „
39 Kühe im 4.—6. Monat der Trächtigkeit	2, 6, 10, 11, 16, 17, 20, 21, 22, 24, 36, 42, 43, 44, 51, 53, 57, 58, 62	A, 50 „
	41, 65, 66, 67, 68, 60, 70, 71, 72, 78, 79, 88, 93, 97, 101, 102, 109, 111, 84, 80	B, 30 „
17 Kühe im 7.—9. Monat der Trächtigkeit	23, 30, 32, 45, 55, 56, 60, 77	A, 50 „
	13, 31, 33, 35, 47, 59, 73, 94, 95	B, 30 „
6 nichtträchtige Kühe	7, 90, 64	A, 50 „
	40, 115, 83	B, 30 „
40 nichtträchtige Kühe und Färsen	2, 4, 8, 9, 14, 18, 27, 28, 29, 34, 37, 38, 39, 48, 49, 50, 52, 107, 108, 110	A, 50 „
	19, 89, 91, 92, 98, 99, 100, 103, 104, 105, 26, 54, 61, 74, 75, 76, 81, 82, 85, 87	B, 30 „

Ergebnis: Von den mit Impfstoff A behandelten Tieren verkalbten nach der Impfung die Kühe 45, 64 und 18, von den Kontrolltieren die Kühe 81, 82, 83, 85 und die Färse 87.

8 mit Impfstoff A behandelte Kühe, die noch nie verkalbt hatten, rinderten öfters und wurden schließlich mit 16 Kontrolltieren, die nicht mehr aufnahmen und zur Mast gestellt worden waren, verkauft.

Über den Verlauf der Trächtigkeit in den folgenden Jahren konnte nichts mehr in Erfahrung gebracht werden.

Tabelle

Ergebnisse der Impfungen

Lfde. Nr.	Bestand	Anzahl der Tiere	Von den Tieren wurden geimpft mit Abortus-Impfstoff					Kontroll-Impfstoff
			A	A + S	C	C + S	S	B
1	M. W. . . .	17	—	—	7	—	—	10
1a	Derselbe . .	9	2	2	1	—	—	4
2	L. N.	55	—	—	30	—	5	20
3	Me. Wa. . .	30	20	—	—	—	—	10
3a	Derselbe . .	14	14	—	—	—	—	—
4	L. H.	14	5	—	—	—	—	9
5	Domin W. . .	62	20	—	18	—	—	24
6	M. P. . . .	90	53	2	4	—	11	20
7	Sch. R. . . .	7	4	—	3	—	—	—
8	W. W. . . .	8	4	—	4	—	—	—
9	P. H.	49	8	8	13	—	—	20
10	N. R.	67	—	32	11	—	—	24
10a	Derselbe . .	33	16	—	2	—	—	15
11	H. B.	49	9	6	9	—	—	25
12	E. K.	45	9	7	7	—	—	22
12a	Derselbe . .	12	6	—	—	—	—	6
13	Th. G. . . .	51	11	12	5	—	—	23
14	W. E. . . .	33	—	9	9	—	—	15
15	R.-G. St. . .	54	24	—	—	—	—	30
16	N. L.	58	24	—	5	—	—	29
17	H. P.	15	2	—	5	—	—	8
18	Gut D. . . .	60	21	—	13	—	—	26
19	G. M.	8	3	—	5	—	—	—
20	Th. St. . . .	12	6	1	—	—	—	5
21	We. Wa. . .	8	2	—	3	—	—	3
22	We. B. . . .	10	3	3	1	—	—	3
23	B. E.	35	20	—	6	—	—	9
24	R. B.	41	11	3	7	—	—	20
25	Sch. A. . . .	28	8	6	—	—	—	14
26	L. W. . . .	7	—	4	—	—	—	3
27	We. H. . . .	31	7	7	4	—	1	12
28	H. A.	47	7	5	14	—	—	21
29	Sp. St. . . .	9	3	2	1	—	—	3
30	G. B.	49	14	7	4	—	—	24
31	St. M. . . .	13	3	2	2	—	—	6
	Zu übertragen	1130	359	118	193	—	17	463

IV.

gegen das seuchenhafte Verkalben.

Von den geimpften Tieren haben nach der Impfung verworfen						Gesamtzahl der Abortusfälle		Bemerkungen
behandelt mit Abortus-Impfstoff					Kontroll-Impfstoff			
A	A + S	C	C + S	S	B	vor der Impfung	nach der Impfung	
—	—	—	—	—	—	3	0	—
1	—	—	—	—	1	6	2	—
—	—	—	—	5	1	7	6	—
2	—	—	—	—	3	5	5	—
1	—	—	—	—	—	3	1	—
—	—	—	—	—	2	4	2	—
2	—	—	—	—	4	12	6	12 Kontrolltiere wegen dauernden Umrinderns verkauft.
1	—	—	—	4	8	16	13	2 C wegen dauernden Umrinderns und Nichtaufnehmens verkauft.
—	—	—	—	—	—	3	—	—
—	—	—	—	—	—	3	—	—
—	—	—	—	—	—	17	—	3 C, 2 A, 4 A + S, 5 B verkauft wegen Umrinderns.
—	3	5	—	—	4	21	12	—
2	—	—	—	—	3	—	5	—
1	1	—	—	—	5	10	7	2 C güst, 2 A + S, 3 A verkauft wegen Umrinderns.
4	—	1	—	—	5	18	10	—
1	—	—	—	—	1	0	2	Sämtliche Kälber erkrankten an Durchfall.
1	2	1	—	—	6	20	10	1 C, 1 Aa, 2 A + S, 8 B wegen Nichtaufnehmens verkauft.
—	1	2	—	—	4	3	7	4 C haben umgerindert und nicht aufgenommen.
3	—	—	—	—	1	28	4	6 A, 7 B nicht aufgenommen verkauft.
3	—	1	—	—	2	8	6	1 A, 4 B verkauft wegen Nichtaufnehmens.
—	—	—	—	—	2	11	2	4 Kontrolltiere haben nicht aufgenommen und wurden verkauft.
8	—	—	—		2	14	10	2 C, 5 B wurden nicht trächtig. Verkauft.
1	—	—	—	—	—	2	1	—
1	—	—	—	—	1	5	2	2 B verkauft als trächtig.
1	—	—	—	—	—	1	1	—
1	—	1	—	—	—	2	2	—
7	—	—	—	—	4	9	11	—
—	—	1	—	—	—	17	1	2 B, 1 A verkauft wegen Nichtaufnehmens.
2	2	—	—	—	3	9	7	2 B zur Mast gestellt.
—	—	—	—	—	—	4	0	1 B wegen Nichtaufnehmens verkauft.
—	1	1	—	—	2	6	4	2 A, 6 B wegen Umrinderns verkauft.
4	1	1	—	—	5	17	11	9 Kontrolltiere nicht trächtig, zum Schlachten verkauft.
2	1	—	—	—	—	3	3	—
2	2	1	—	—	3	9	8	—
1	—	1	—	—	2	6	4	2 Kontrolltiere wurden verkauft, weil sie nicht trächtig wurden.
52	14	16	—	9	74	302	165	

Fortsetzung von

Lfde. Nr.	Bestand	Anzahl der Tiere	Von den Tieren wurden geimpft					
			mit Abortus-Impfstoff					Kontroll-Impfstoff
			A	A + S	C	C + S	S	B
	Übertrag	1130	359	118	193	—	17	463
32	Me. Wa. . .	53	10	6	12	—	—	25
33	N. W. . . .	26	8	—	4	—	—	14
34	H. Bi. . . .	41	—	—	1	21	—	19
34a	Derselbe . .	20	10	—	—	—	—	10
35	La. H. . . .	31	3	—	4	9	—	15
36	L. P.	72	9	11	11	10	—	31
37	Fl. B. . . .	104	12	8	15	17	—	52
38	Fü. Ra. . . .	35	8	4	6	—	—	17
39	B.sche Güter .	88	30	7	8	—	—	43
40	H. K. . . .	41	13	2	8	—	—	18
41	F. J.	10	6	1	—	—	—	3
42	K. L.	68	17	—	17	—	—	34
43	E. M. . . .	79	22	—	19	—	—	38
44	E. D.	11	4	—	2	—	—	5
45	H. D.	6	—	—	3	—	—	3
46	B. D.	7	3	—	2	—	—	2
47	B. Kl. . . .	29	11	—	4	—	—	14
48	N. H.-Dorf . .	23	5	—	8	—	—	10
49	N. G.-Dorf . .	57	19	—	11	—	—	27
50	Kl. Wa. . . .	3	2	—	1	—	—	—
51	G. Me. . . .	43	12	—	11	—	—	20
52	de W. H. . .	30	12	—	4	—	—	14
53	J. N.	62	17	—	15	—	—	30
54	Rittergut Ch. .	108	47	—	7	—	—	54
55	O. D.	29	8	—	10	—	—	11
56	B. He. . . .	16	4	—	5	—	—	7
57	O. E.	19	9	—	2	—	—	8
58	P. W. . . .	26	8	—	6	—	—	12
59	R. E.	9	4	—	2	—	—	3
60	J. G.	32	11	—	6	—	—	15
61	Sch. V. . . .	32	8	—	10	—	—	14
62	Sch. G. . . .	13	5	—	2	—	—	6
63	H. H.	38	11	—	8	—	—	19
64	Sch. N. . . .	20	6	—	5	—	—	9
65	B. O.	12	—	—	6	—	—	6
66	Sp. Str. . . .	29	8	—	8	—	—	13
67	W. Gü. . . .	40	17	—	4	—	—	19
	Zu übertragen	2492	718	157	440	57	17	1103

Tabelle IV.

Von den geimpften Tieren haben nach der Impfung verworfen						Gesamtzahl der Abortusfälle		Bemerkungen
behandelt mit Abortus-Impfstoff					Kontroll-Impfstoff			
A	A + S	C	C + S	S	B	vor der Impfung	nach der Impfung	
52	14	16	—	9	74	302	165	
—	3	—	—	—	3	11	6	3 A, 4 C, 5 B wurden nicht trächtig und sind deshalb verkauft worden.
—	—	—	—	—	—	9	—	—
—	—	—	—	—	2	12	2	—
1	—	—	—	—	2	3	3	—
—	—	—	—	—	1	9	1	1 C verkauft.
—	2	—	1	—	8	13	11	2 C, 9 B wegen Umrinderns verkauft
3	—	—	2	—	7	18	12	2 C, 8 B haben nicht aufgenommen und sind deshalb verkauft worden.
2	—	—	—	—	5	16	7	—
3	1	1	—	—	6	18	11	13 B wegen Nichtaufnehmens teils gemästet, teils verkauft.
3	—	1	—	—	7	14	11	—
1	—	—	—	—	1	3	2	—
—	—	—	—	—	6	15	6	6 Kontrolltiere wurden nicht trächtig. — Verkauft.
2	—	1	—	—	9	14	12	—
—	—	—	—	—	—	3	—	—
—	—	—	—	—	—	2	—	1 B verkauft.
—	—	—	—	—	—	1	—	—
1	—	—	—	—	2	6	3	—
1	—	1	—	—	—	3	2	—
1	—	1	—	—	1	6	3	Umrindern dauert fort. Es wurden verkauft: 2 A, 2 C, 8 B.
—	—	—	—	—	—	1	—	—
—	—	1	—	—	3	9	4	2 C, 1 B umgerindert. Verkauft.
2	—	—	—	—	3	5	5	—
1	—	—	—	—	4	7	5	—
4	—	—	—	—	7	38	11	—
2	—	—	—	—	3	8	5	2 A, 4 C nach dem Abkalben verkauft.
—	—	—	—	—	3	3	3	1 A, 2 B erwiesen sich als nichtträchtig und wurden verkauft.
—	—	—	—	—	—	4	—	—
—	—	—	—	—	1	5	1	1 A, 3 B verkauft.
—	—	—	—	—	—	6	—	1 B umgerindert. Verkauft.
4	—	1	—	—	6	13	11	4 Kontrolltiere wegen Umrinderns verkauft.
2	—	—	—	—	4	7	6	—
—	—	—	—	—	2	3	2	—
—	—	1	—	—	11	12	12	—
1	—	1	—	—	3	6	5	Sehr hartnäckige Fälle von Zurückhalten der Nachgeburt beobachtet.
—	—	—	—	—	1	7	1	1 B güst.
2	—	—	—	—	3	9	5	1 C, 1 B verkauft.
1	—	—	—	—	8	9	9	7 B verkauft.
89	20	25	3	9	196	630	342	

Fortsetzung von

Lfde. Nr.	Bestand	Anzahl der Tiere	Von den Tieren wurden geimpft					
			mit Abortus-Impfstoff					Kontroll-Impfstoff
			A	A + S	C	C + S	S	B
	Übertrag	2492	718	157	440	57	17	1103
68	Br. R. . . .	9	2	—	3	—	—	4
69	B. H.	25	12	—	1	—	—	12
70	N. Sp. . . .	23	7	—	4	—	—	12
71	L. B.	43	14	—	8	—	—	21
72	Kloster E. . .	22	4	—	8	—	—	10
73	M. E. . . .	24	9	—	2	—	—	13
74	P. H.	41	19	—	3	—	—	19
75	Gü. R. . . .	41	15	—	6	—	—	20
76	Li. H. H. . .	20	11	—	—	—	—	9
77	Le. Hü. . . .	42	16	—	7	—	—	19
78	L. Sch. . . .	53	26	—	—	—	—	27
79	Domin. R. . .	62	30	—	—	—	—	32
80	H. A. . . .	109	54	—	—	—	—	55
	Endsumme	3006	937	157	482	57	17	1356
			1650					

VI. Ergebnisse der Immunisierungsversuche.

Die beschriebenen Versuche über die Impfungen gegen das ansteckende Verkalben in 80 Rindviehbeständen haben, im einzelnen betrachtet, die verschiedensten Ergebnisse geliefert. Bei den Versuchen sind alle überhaupt möglichen Ergebnisse eingetreten, mit denen man bei derartigen Impfungen zu rechnen hat und die im Kapitel IV eingehend besprochen worden sind.

In den Beständen 1, 7, 8, 9, 33, 44, 45, 46, 50, 57 und 59 hat das Verkalben nach der Impfung gänzlich aufgehört. In den Beständen 3, 21, 22, 29, 52, 56, 63 und 67 ist die Zahl der Abortusfälle vor und nach der Impfung die gleiche geblieben und in den Beständen 14, 23, 69, 70 und 76 haben die Abortusfälle nach der Impfung sogar an Zahl zugenommen, während sie wiederum in vielen anderen Beständen eine erhebliche Abnahme erfahren haben.

Nach den Ausführungen im Kapitel IV ist die Tatsache, daß in einem Bestande die Zahl der Abortusfälle zunimmt, keineswegs auf eine Wirkungslosigkeit der Impfstoffe zurückzuführen. Ebensowenig darf aus der Abnahme der Abortusfälle oder aus dem gänzlichen Aufhören des Verkalbens in einigen Beständen stets auf eine gute Wirkung der Impfstoffe geschlossen werden, da die Ergebnisse der Impfungen vielfach von Umständen abhängen, die an sich gar nichts mit der Impfung zu tun haben.

Tabelle IV.

Von den geimpften Tieren haben nach der Impfung verworfen						Gesamtzahl der Abortusfälle		Bemerkungen
behandelt mit Abortus-Impfstoff					Kontroll-Impfstoff			
A	A + S	C	C + S	S	B	vor der Impfung	nach der Impfung	
89	20	25	3	9	196	630	342	
—	—	—	—	—	—	1	0	Viele Kälber gingen an Durchfall ein.
3	—	1	—	—	4	7	8	Hartnäckige Fälle von Festhalten der Nachgeburt beobachtet.
2	—	—	—	—	6	7	8	desgl.
2	—	1	—	—	4	16	7	—
1	—	—	—	—	—	2	1	—
—	—	—	—	—	4	8	4	—
4	—	—	—	—	3	15	7	2 B wegen Nichtaufnehmens verkauft.
3	—	1	—	—	3	8	7	4 Kälber an Ruhr eingegangen. 1 C, 1 B güst, 2 B geschlachtet.
4	—	—	—	—	4	4	8	—
1	—	—	—	—	4	6	5	4 B, 4 C verkauft.
4	—	—	—	—	7	15	11	—
1	—	—	—	—	5	13	6	Bei 4 A und 10 B kann kein Ergebnis festgestellt werden.
3	—	—	—	—	5	16	8	8 A, 16 B umgerindert.
117	20	28	3	9	245	758	422	
177								

Einzelne Ergebnisse für sich allein zu betrachten, wäre deshalb verfehlt. Nur das Gesamtbild der Impfungen kann für die Beurteilung ihrer Ergebnisse maßgebend sein.

Um einen besseren Überblick über sämtliche Impfungen zu gewinnen, sind diese in Tabelle IV zahlenmäßig zusammengestellt worden.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß von 3006 Tieren aus 80 Beständen 1650 mit Abortusimpfstoff behandelt und 1356 als Kontrolltiere verwendet wurden.

Von den 3006 Tieren haben vor der Impfung 758 = 25,21 % und nach der Impfung 442 = 14,03 % verkalbt. Die Zahl 758 = 25,21 % ist dabei noch etwas zu niedrig angegeben, weil nicht mehr alle vor der Impfung vorgekommenen Fälle von ansteckendem Verkalben festgestellt werden konnten, und weil auch ein Teil der Tiere, die verkalbt hatten, vor der Impfung verkauft worden waren. Trotzdem wird aber den folgenden Vergleichen die Zahl 758 = 25,21 % zugrunde gelegt. Aus der einfachen Gegenüberstellung der Zahlen ergibt sich somit ein Rückgang der Abortusfälle nach der Impfung von 758 = 25,21 % auf 422 = 14,03 %.

Es erhebt sich nun die Frage, auf welche Ursache diese Verminderung der Abortusfälle zurückzuführen ist. Aus der Tatsache, daß von 1650 mit Abortusimpfstoffen geimpften Tieren 177 = 10,72 % und von den 1356 Kontrolltieren

245 = 18,06%[1]) nach der Impfung verkalbt haben, wäre, da die vor der Impfung beobachtete Zahl der Abortusfälle 758 = 25,21% betrug, auf einen allgemeinen Rückgang der Abortusfälle zu schließen. Dieser Rückgang ist aber, wie die angeführten Zahlen zeigen, bei den mit Abortusimpfstoff behandelten Tieren größer als bei den Kontrolltieren. Die Abnahme der Zahl der Abortusfälle nach der Impfung muß demnach zu einem größeren Teil auf die Wirkung der Impfstoffe zurückgeführt werden.

Zur Beantwortung der Frage, welche Impfstoffe an der Verminderung der Abortusfälle besonders beteiligt sind, müssen weitere Vergleiche angestellt werden.

Betrachtet man zunächst die Ergebnisse, die die Impfungen mit abgetöteter Kultur (Impfstoff A) geliefert haben, so ersieht man daraus, daß nach der Impfung von 937 Tieren mit Impfstoff A bei 117 Tieren = 12,48% Abortus eintrat. Annähernd die gleichen Ergebnisse haben die Impfungen mit abgetöteter Kultur + Immunserum geliefert. Von 157 mit Impfstoff A + S behandelten Tieren haben 20 = 12,73% verkalbt.

Erheblich geringer ist die Zahl der Abortusfälle bei den mit lebenden Abortusbacillen (Impfstoff C) und bei den mit lebender Abortuskultur + Immunserum (Impfstoff C + S) behandelten Tieren. Bei 482 mit Impfstoff C behandelten Tieren sind nach der Impfung nur 28 = 5,8% Abortusfälle vorgekommen und von 57 mit Impfstoff C + S behandelten Tieren haben 3 = 5,26% verkalbt. Wenn auch die angeführte Zahl der Versuchstiere, die zu den Impfungen mit Impfstoff C + S verwendet worden waren, eine verhältnismäßig kleine ist, so dürfte doch die Angabe der bei diesen Tieren nach der Impfung beobachteten Abortusfälle mit 5—6% richtig sein, da die in dieser Tabelle nicht erwähnten Impfungen, die in anderen Beständen mit dem Impfstoff C + S angestellt worden sind, die gleichen Ergebnisse geliefert haben.

Als besonders schlecht sind die Ergebnisse der Impfungen mit Immunserum zu bezeichnen. Von 17 mit Impfstoff S geimpften Tieren haben 9, also über die Hälfte verkalbt. Dieses ungünstige Ergebnis ist damit zu erklären, daß nur hochträchtige Tiere, die sicher infiziert waren, und teilweise schon Erscheinungen des bevorstehenden Verkalbens zeigten, einer Impfung mit Immunserum unterzogen worden sind. Da nach diesen Erfahrungen die passiven Immunisierungsversuche mit Immunserum trotz Verwendung großer Serummengen wenig Aussicht auf Erfolg versprachen, sind sie nicht mehr weiter fortgesetzt und in der allgemeinen Zusammenstellung der Impfergebnisse auch nicht berücksichtigt worden.

Aus den Ausführungen geht hervor, daß das Verkalben durch die vorgenommenen Impfungen und namentlich durch die Behandlung der infizierten und ansteckungsverdächtigen Tiere mit lebenden Abortusbacillen günstig beeinflußt werden konnte.

Um jedoch ein richtiges Bild über die Wirksamkeit der verschiedenen Impfstoffe und über den Wert der Abortusimpfungen zu gewinnen, müssen bei der Beurteilung der Impfergebnisse in jedem einzelnen Fall der Stand des ansteckenden Verkalbens vor und nach der Impfung beachtet und die in den Viehbeständen nach der Impfung

[1]) Diese Zahl ist jedoch, wie die später ausgeführte Berechnung zeigen wird, zu niedrig gegriffen, weil die verkauften Tiere dabei nicht in Abrechnung gestellt worden sind.

eingetretenen Veränderungen berücksichtigt werden. Es wäre dabei von großem Wert, zu wissen, wie viele und welche von den Tieren eines Bestandes bei der Vornahme der Impfung infiziert und nicht infiziert waren. Um dies festzustellen, hätte vor der Impfung bei sämtlichen Tieren eines Bestandes eine Blutuntersuchung stattfinden müssen. Da dies jedoch nicht immer möglich war, so haben wir bei unseren Versuchen die Angaben über die vor der Impfung verzeichneten Abortusfälle zum Anhaltspunkt genommen und Tiere, die einmal verkalbt hatten, als infiziert und noch nicht immun angesehen, während die Tiere, die zweimal und öfter verkalbt hatten, als infiziert und wahrscheinlich immun betrachtet wurden. Unter den übrigen, abortusverdächtigen Tieren eines Bestandes befanden sich natürlich noch viele wirklich infizierte Tiere, was aber für eine spätere Beurteilung der Impfergebnisse ziemlich belanglos ist. Die genaue Feststellung und Trennung der einmaligen und mehrmaligen Abortusfälle ist dagegen unbedingt erforderlich, weil die Tiere erfahrungsgemäß durch mehrmaliges Verkalben eine natürliche Immunität erwerben und in der Regel keines Impfschutzes mehr bedürfen. Zur einwandfreien Beurteilung der Impfergebnisse muß daher die Zahl der Tiere, die vor der Impfung mehrmals verkalbt hatten, mit der Zahl der verkauften oder sonstwie ausgemerzten Tiere eines Bestandes von der Gesamtzahl in Abrechnung gebracht werden. Hernach kann mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit durch einfachen Vergleich über das Vorkommen von Abortusfällen vor und nach der Impfung die Wirkung der angewandten Impfstoffe bestimmt werden.

Über die Erfahrungen, die wir bei unseren Versuchen über die Wirksamkeit der verschiedenen Impfstoffe sammeln konnten, wird im folgenden berichtet:

1. Ergebnisse der Impfungen mit abgetöteter Kultur.

Die Ergebnisse, die nach den Impfungen mit dem Impfstoff A beobachtet wurden, waren manchmal ganz entgegengesetzte. Während in einzelnen Beständen nur die Kontrolltiere und kein einziges der mit Impfstoff A behandelten Tiere verkalbte, konnte in anderen Beständen eine Schutzwirkung überhaupt nicht festgestellt werden, da die Tiere nach der Impfung ebenso häufig verkalbten wie vorher. Vereinzelt kam es auch vor, daß in Beständen, in denen nur mit Impfstoff A geimpft worden war, das Verkalben spontan aufhörte. Ferner wurde beobachtet, daß Tiere, die einmal verworfen und nach der Impfung mit Impfstoff A normal ausgetragen hatten, ein Jahr später zum zweiten Male verkalbten, eine Erscheinung, die ja auch bei ungeimpften Tieren zuweilen auftritt und wahrscheinlich in einer kurz dauernden künstlichen oder natürlichen Immunität begründet ist.

Die Wirkung des Impfstoffs A geht aus nachstehenden Zahlen hervor:

Gesamtzahl der mit Impfstoff A geimpften Tiere	Vor der Impfung haben verkalbt				Nach der Impfung haben verkalbt		
	Insgesamt	1 mal	2 mal	3 mal	Insgesamt	Zum 1. Mal	Zum 2. Mal
937	180	164	15	1	117	78	39

Nach der Impfung wurden verkauft, geschlachtet usw. 41 Tiere, darunter 6, die vor der Impfung 2 mal verkalbt hatten.

Zur Zeit der Impfung waren vorhanden: 937 Tiere	Abortusfälle vor der Impfung: 180 = 20,08 %	
Bei Feststellung der Ergebnisse noch vorhanden: 886 Tiere	Abortusfälle vor der Impfung: 164 = 18,51 % Abortusfälle nach der Impfung: 117 = 13,20 %	Abnahmeverhältnis: 164 : 117 1,4 : 1
Zahl der geimpften Tiere, die vor der Impfung 1 mal verkalbt hatten: 164	Abortusfälle nach der Impfung: 39 = 23,77 %	
Zahl der verdächtigen Tiere: 886 – 164 = 722	Abortusfälle nach der Impfung: 78 = 10,80 %	

In vorstehender Übersicht ist die Verschiedenheit des Impfstoffs A gänzlich unberücksichtigt geblieben. In die hier aufgeführten Ergebnisse sind auch die eingerechnet worden, die durch die Impfungen mit dem Impfstoff Aa erhalten wurden. Tatsächlich weisen auch die Impfstoffe aus abgetöteter Kultur, soweit sie aus abgetöteter gewöhnlicher Bouillonkultur und aus abgetöteten Agarkulturabschwemmungen hergestellt worden sind, keine großen Unterschiede hinsichtlich ihrer Wirkung auf.

Ganz auffallend günstig sind jedoch die Ergebnisse, die bei den Impfungen mit abgetöteter Amnionbouillonkultur in 10 Beständen (1a, 3, 3a, 4, 5, 6, 7, 8, 9 und 11) festgestellt werden konnten und die in folgender Tabelle besonders zusammengefaßt sind.

Gesamtzahl der mit abgetöteter Amnionbouillonkultur Impfstoff A (30 ccm) geimpften Tiere	Vor der Impfung haben verkalbt				Nach der Impfung haben verkalbt			
	Insgesamt	1 mal	2 mal	3 mal	Insgesamt	Zum 1. Mal	Zum 2. Mal	Zum 3. Mal
139	22	22	0	0	8	5	3	0

Verkauft sind 2 Tiere, die vor der Impfung nicht verkalbt hatten.

Bei Feststellung der Ergebnisse vorhanden: 137 Tiere	Abortusfälle vor der Impfung 22 = 16,05 % „ nach „ „ 8 = 5,76 %	Abnahmeverhältnis: 22 : 8 2,7 : 1

Die Ursache dieser ungleich günstigeren Wirkung des aus abgetöteter Amnion-Bouillonkultur bestehenden Impfstoffs konnte nicht in Erfahrung gebracht werden. Es ist möglich, daß das bessere Wachstum der Abortusbacillen in Amnionbouillonkultur an sich schon eine bessere Wirkung des Impfstoffs bedingt. Vielleicht ist diese aber auch auf den Gehalt des Nährbodens an Amnionflüssigkeit zurückzuführen. Das günstigere Ergebnis, das mit diesem Impfstoff erzielt worden ist, wäre dann möglicherweise chemisch-biologisch so zu erklären, daß der Impfstoff eine besondere Affinität zum Gewebe des Uterus und der Placenta besitzt und infolgedessen eine stärkere Wirkung entfalten kann. Vielleicht beruht auch der gute Erfolg, der

nach der Verwendung von abgetöteter Amnionbouillonkultur zur Impfung beobachtet worden ist, auf einem Zufall. Zur Klärung dieser Fragen hätten die Impfungen fortgesetzt werden müssen, was jedoch durch die erschwerte Beschaffung der nötigen Mengen Amnionflüssigkeit für umfangreiche Versuche nicht möglich war.

Im übrigen kann aus den Ergebnissen der Impfungen mit abgetöteten Abortusbacillen geschlossen werden, daß durch die Impfung mit abgetöteter Kultur sowohl nichtträchtigen, als auch trächtigen Kühen und Färsen ein Schutz verliehen wird, der die Abortusfälle wohl zu vermindern, aber nicht wesentlich einzuschränken oder ganz zu verhindern vermag.

2. Ergebnisse der Impfungen mit abgetöteter Kultur + Immunserum.

Die Ergebnisse, die bei der Impfung mit abgetöteter Kultur + Immunserum festgestellt werden konnten, weichen von den bei der Impfung mit abgetöteter Kultur gewonnenen Ergebnissen wenig ab. Die nach der Impfung mit Impfstoff A + S beobachtete Abnahme der Abortusfälle geht aus nachstehender Zusammenstellung der Impfergebnisse hervor.

Gesamtzahl der mit Impfstoff A + S geimpften Tiere	Vor der Impfung haben verkalbt				Nach der Impfung haben verkalbt			
	Insgesamt	1 mal	2 mal	3 mal	Insgesamt	Zum 1. Mal	Zum 2. Mal	Zum 3. Mal
157	38	36	2	—	20	14	6	—

Von den 157 Tieren sind 8 Tiere, darunter 4, die einmal verkalbt hatten, wegen Nichtaufnehmens und aus anderen Gründen verkauft worden. Da ferner 2 Tiere 2 mal verkalbt hatten, so sind die Zahlen 157 (147) und 38 (32) entsprechend zu berichtigen.

Zur Zeit der Impfung waren vorhanden: 157 Tiere	Abortusfälle vor der Impfung: 38 = 24,20 %	
Bei Feststellung der Ergebnisse waren vorhanden: 147 Tiere	Abortusfälle bei 147 Tieren vor der Impfung: 32 = 21,76 % Abortusfälle nach der Impfung: 20 = 13,60 %	Abnahmeverhältnis 32 : 20 1,6 : 1
Zahl der geimpften Tiere, die vor der Impfung 1 mal verkalbt hatten: 36 − 4 = 32	Abortusfälle nach der Impfung: 6 = 18,75 %	
Zahl der verdächtigen Tiere: 147 − 32 = 115	Abortusfälle nach der Impfung: 14 = 12,17 %	

Die Ergebnisse der übrigen mit dem Impfstoff A + S in anderen Beständen vorgenommenen Impfungen, die hier nicht erwähnt worden sind, stimmen, soweit Angaben darüber erhoben werden konnten, mit den beschriebenen überein.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen somit, daß durch Impfungen trächtiger Tiere mit dem Impfstoff A + S die Abortusfälle von 21,76% auf 13,60% herabgesetzt werden konnten.

3. Ergebnisse der Impfungen mit lebender Kultur.

Eine erhebliche Verminderung der Fälle von ansteckendem Verkalben wurde nach der Impfung der Tiere mit lebender Kultur beobachtet. Die Ergebnisse dieser Impfung sind folgende:

Gesamtzahl der mit lebender Kultur (Impfstoff C) geimpften Tiere	Vor der Impfung haben verkalbt				Nach der Impfung haben verkalbt			
	Insgesamt	1 mal	2 mal	3 mal	Insgesamt	Zum 1. Mal	Zum 2. Mal	Zum 3. Mal
482	144	134	9	1	28	22	6	—

Vor der Feststellung der Ergebnisse wurden verkauft: 39 Tiere, darunter 6, die 1 mal, 6, die 2 mal verkalbt hatten und 1, das 3 mal verkalbt hatte.

Zur Zeit der Impfung vorhanden: 482	Abortusfälle vor der Impfung: 144 = 29,67 %	
Bei Feststellung der Ergebnisse noch vorhanden: 440	Abortusfälle vor der Impfung: 128 = 29,09 % Abortusfälle nach der Impfung: 28 = 6,36 %	Abnahmeverhältnis: 128 : 28 = 4,5 : 1
Zahl der geimpften Tiere, die vor der Impfung 1 mal verkalbt hatten: 128	Abortusfälle nach der Impfung: 6 = 4,68 %	
Zahl der ansteckungsverdächtigen Tiere: 440—128 = 312	Abortusfälle nach der Impfung: 22 = 7,05 %	

Da der Impfstoff C hauptsächlich für solche nichtträchtige Tiere bestimmt war, die Träger des Ansteckungsstoffes sind und bereits einmal verkalbt hatten, ist der hohe Prozentsatz (29,67 %) der Tiere, die vor der Impfung verworfen hatten, ohne weiteres zu erklären.

Die Ergebnisse der Impfungen mit lebender Kultur lassen sich dahin zusammenfassen, daß lebende Kultur den damit geimpften Tieren in vielen Fällen einen wirksamen Schutz verleiht.

Auffällig ist die Erscheinung, daß von 128 Tieren, die vor der Impfung einmal verkalbt hatten, nach der Impfung nur 6 = 4,68 % verworfen haben, während nach der Impfung mit dem Impfstoff A bei solchen Tieren in 23,77 % der Fälle der Abortus sich wiederholte. *Aus dieser Tatsache wäre zu schließen, daß Tiere, die infolge der Infektion mit dem Erreger des ansteckenden Verkalbens 1 mal verworfen hatten und nach dem Verwerfen mit lebender Abortuskultur geimpft worden waren, nur selten ein zweites Mal verkalben.*

Trotz aller Vorsicht war es oft schwer, nichtträchtige Tiere mit Sicherheit von der Impfung mit lebender Kultur auszuschließen. Immer wieder kamen bei der Impfung mit lebender Kultur Fälle vor, wo der Besitzer ein Tier als nichtträchtig bezeichnete, das in Wirklichkeit doch trächtig war und infolge der Einspritzung lebender Abortusbacillen später verwarf. So sind von 28 Abortusfällen 11 sicher und 5 wahrscheinlich auf eine falsche Impfung trächtiger Tiere mit lebender Kultur zurück-

zuführen gewesen. Die Ergebnisse würden demnach, wenn derartige Fälle ganz zu vermeiden gewesen wären, noch wesentlich günstiger ausgefallen sein.

Die Impfung mit lebender Abortuskultur hat aber nicht nur bei nichtträchtigen Tieren, die vor der Impfung verkalbt hatten, sondern auch bei nichtträchtigen, abortusfreien Tieren bessere Ergebnisse geliefert als die Impfung mit abgetöteter Kultur.

Aus diesem Umstand muß geschlossen werden, daß lebende Abortusbacillen zur Immunisierung gegen den infektiösen Abortus besser geeignet sind als abgetötete Abortuskultur.

4. Ergebnisse der Impfungen mit lebender Kultur + Serum.

Die an trächtigen Tieren vorgenommenen Impfungen mit lebender Kultur + Immunserum haben ganz ähnliche Ergebnisse geliefert, wie die Behandlung nichtträchtiger Tiere mit lebender Kultur allein. Leider konnten nicht alle mit dem Impfstoff C + S angestellten Impfungen zur Feststellung des Endergebnisses herangezogen werden, da von verschiedenen Beständen nur unvollständige Angaben zu erlangen waren.

Die folgende Zusammenstellung der Ergebnisse umfaßt daher nur die Impfungen einer verhältnismäßig kleinen Anzahl von Tieren. Sie stimmt jedoch mit den Beobachtungen, die wir sonst über die Impfung mit lebender Kultur + Immunserum sammeln konnten, vollkommen überein,

Gesamtzahl der mit lebender Kultur + Immunserum (Impfstoff C + S) geimpften Tiere	Vor der Impfung haben verkalbt				Nach der Impfung haben verkalbt		
	Insgesamt	1 mal	2 mal	3 mal	Insgesamt	Zum 1. Mal	Zum 2. Mal
57	11	9	1	1	3	1	2

Abzurechnen sind somit 2 Tiere, die 2- und 3 mal verkalbt hatten.

Zahl der bei der Impfung vorhandenen Tiere: 57	Abortusfälle vor der Impfung: 11 = 19,29 %	
Bei Feststellung der Impfergebnisse vorhanden: 55	Abortusfälle vor der Impfung: 9 = 16,36 % Abortusfälle nach der Impfung: 3 = 5,45 %	Abnahme: 9 : 3 3 : 1

Aus den Impfungen mit lebender Kultur + Immunserum geht demnach hervor, daß diese bei trächtigen Tieren eine fast ebenso starke Verminderung der Abortusfälle zur Folge haben, wie die Impfungen mit lebenden Abortusbacillen bei nichtträchtigen Tieren.

5. Zahl der Abortusfälle bei den Kontrolltieren.

Um die Wirkung der verschiedenen Impfstoffe vergleichen zu können und ein allgemeines Urteil über den Wert der Abortusimpfungen zu gewinnen, ist es notwendig, auch die vor und nach der Impfung festgestellte wirkliche Zahl der Abortusfälle bei den mit Impfstoff B geimpften Kontrolltieren einer näheren Betrachtung zu unterziehen.

Die nachstehende Übersicht zeigt den Stand des ansteckenden Verkalbens bei den Kontrolltieren vor und nach der Impfung.

Gesamtzahl der mit dem Kontrollimpfstoff B geimpften Kontrolltiere	Vor der Impfung haben verkalbt				Nach der Impfung haben verkalbt		
	Insgesamt	1 mal	2 mal	3 mal	Insgesamt	Zum 1. Mal	Zum 2. Mal
1356	269	185	83	1	245	132	113

Davon wurden wegen Umrinderns, Nichtaufnehmens und aus anderen Gründen verkauft, geschlachtet usw. 198 Tiere. Darunter befanden sich 10 Tiere, die einmal und 10, die 2 mal verkalbt hatten, sowie das Tier, das 3 mal verworfen hatte.

Zahl der Tiere bei Vornahme der Impfung: 1356	Davon haben vor der Impfung verkalbt: 269 = 19,90 %	
Bei Feststellung der Ergebnisse waren vorhanden: 1085	Davon haben vor der Impfung 1 mal verkalbt: 175 = 16,31 % Nach der Impfung haben verkalbt: 245 = 22,68 %	Zunahme 175 : 245 1 : 1,4
Zahl der Tiere, die vor der Impfung 1 mal verkalbt hatten: 175	Davon haben nach der Impfung zum 2. Mal verkalbt: 113 = 64,56 %	
Zahl der Tiere, die vor der Impfung nicht verkalbt hatten: 1085—175 = 910	Davon haben nach der Impfung verkalbt: 132 = 14,50 %	

Hieraus ist zu ersehen, daß das Verkalben bei den Kontrolltieren zugenommen hat, während bei sämtlichen mit Abortusimpfstoffen behandelten Gruppen die Abortusfälle eine Verminderung erfahren haben.

Die Zahl der bei den Kontrolltieren neu hinzugekommenen Abortusfälle 132 = 14,50 % entspricht etwa der natürlichen Zunahme des Verkalbens in infizierten Beständen, in denen keine Impfung vorgenommen wird. Auf die Wirkung der Impfstoffe ist es zurückzuführen, wenn diese Zahl bei den künstlich immunisierten Tieren kleiner wird (z. B. nach der Impfung mit Impfstoff A = 10,80 % und mit Impfstoff C = 7,05 %).

Die große Zahl der 2maligen Abortusfälle bei den Kontrolltieren, 113 = 64,56 % der vor der Impfung beobachteten 1maligen Abortusfälle, entspricht im allgemeinen den Erfahrungen, die beim ansteckenden Verkalben gesammelt werden konnten, daß nämlich die Tiere, die 1 mal verworfen haben, in der Regel ein zweites Mal verkalben. Die Zahl würde zweifellos noch wesentlich höher sein, wenn nicht gerade von den Kontrolltieren eine große Anzahl nach dem ersten Abortus steril geblieben und teils vor, teils nach der Feststellung der Impfergebnisse verkauft, geschlachtet oder auf Mast gestellt worden wäre.

Um die nach der Verwendung der verschiedenen Impfstoffe beobachtete Verminderung der Abortusfälle mit der Zunahme der Abortusfälle bei den Kontrolltieren vergleichen zu können, sind die Gesamtergebnisse der Impfversuche im folgenden zusammengefaßt worden.

Gesamtzahl der Tiere von 80 Beständen	3006
Von diesen sind mit Abortusimpfstoff geimpft worden	1650
Als Kontrolltiere wurden verwendet	1356

Vor der Impfung haben einmal und öfter verkalbt . . .	758 Tiere = 25,21 %
„ „ „ „ „ verkalbt	642 „ = 21,5 „ [1])

Bezeichnung der verwendeten Impfstoffe	Vor der Impfung haben verkalbt %	Nach der Impfung haben verkalbt %	Abnahme der Abortusfälle	Zunahme der Abortusfälle
Impfstoff A (abgetötete Abortuskultur) zweimal im Abstand von 4—8 Wochen verimpft	18,51	13,20	164 : 117	—
Impfstoff A + S (abgetötete Kultur + Serum)	21,76	13,60	32 : 20	—
Impfstoff C (lebende Kultur) . . . . Es fand stets eine einmalige Impfung statt.	29,09	6,36	128 : 28	—
Impfstoff C + S (lebende Kultur + Serum)	16,36	5,45	9 : 3	—
Kontrollimpfstoff B (sterile Bouillon) für Kontrolltiere	16,31	22,68	—	175 : 245

Nach der Impfung haben insgesamt (Versuchstiere + Kontrolltiere) verkalbt: 14,03 % der Tiere
nach Abrechnung der verkauften Tiere: 15,15 „ „ „

Die hier zusammengefaßten Gesamtergebnisse der Impfversuche zeigt die am Schluß der Arbeit befindliche graphische Darstellung.

Nach den Ergebnissen der Impfungen gegen das ansteckende Verkalben ist demnach die Gesamtzahl der Abortusfälle in den geimpften Beständen von 25,21 % auf 14,03 % (nach Abrechnung der nach der Impfung ausgeschiedenen Tiere von der Gesamtzahl der Tiere von 21,5 auf 15,5 %) zurückgegangen. Da gleichzeitig das Verkalben bei den Kontrolltieren um etwa 6 % zugenommen hat, so ist die Verminderung der Abortusfälle auf die Wirkung der Abortusimpfstoffe zurückzuführen. Diese Verminderung ist zu einem größeren Teil der Behandlung der Tiere mit lebenden Abortusbacillen und zu einem kleineren Teil der Impfung mit abgetöteter Abortuskultur zuzuschreiben. Im allgemeinen würde die Zahl der Abortusfälle in den geimpften Beständen noch erheblich stärker vermindert worden sein, wenn nicht beinahe die Hälfte aller Tiere zur Kontrolle unbehandelt geblieben wäre.

Nach den Erfahrungen, die bei den Impfungen gegen das ansteckende Verkalben in 123 Beständen gesammelt werden konnten, ist die Behandlung nichtträchtiger Tiere mit lebenden Abortusbacillen in ihrer Wirkung der Behandlung trächtiger Tiere mit lebender Abortuskultur + Immunserum gleichzusetzen. Bei beiden Methoden konnte ein guter, wenn auch nicht vollkommen befriedigender Erfolg beobachtet werden.

[1]) Die Zahl 642 ist in der Zahl 758 enthalten.

Abgesehen von der Behandlung mit abgetöteter Amnionbouillonkultur hat die Impfung mit abgetöteter Kultur, der die Behandlung mit abgetöteter Kultur + Immunserum gleichzusetzen ist, keine so guten Ergebnisse geliefert wie die Impfung mit lebender Kultur und lebender Kultur + Immunserum.

Was im besonderen den aus abgetöteter Amnionbouillonkultur hergestellten Impfstoff betrifft, so scheint diesem eine stärker immunisierende Wirkung eigen zu sein als anderen, durch Abtötung gewöhnlicher Abortusbouillonkultur und Agarkulturabschwemmung hergestellten Impfstoffen. Soweit unsere Versuche einen Schluß gestatten, kommt dieser Impfstoff in seiner immunisierenden Wirkung der lebenden Abortuskultur ziemlich nahe.

Die passive Immunisierung hochtragender, stark abortusverdächtiger Kühe mit künstlich hergestelltem Abortusimmunserum hat durchaus unbefriedigende Ergebnisse geliefert.

Einige bisher noch nicht erwähnte Immunisierungsversuche, die in infizierten Viehbeständen an Kälbern und Jungrindern mit abgeschwächten Abortuskulturen angestellt worden sind, haben nicht befriedigt. Das durchweg ungünstige Ergebnis dieser Versuche ist wohl weniger auf eine ungenügende Wirksamkeit der Impfstoffe, als vielmehr darauf zurückzuführen, daß jugendliche Tiere zur Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben viel weniger geeignet sind als ältere, im geschlechtsreifen Alter stehende Kühe und Färsen.

VII. Das Alter der Tiere in seiner Beziehung zur Infektion mit dem Bangschen Bacillus und zur natürlichen und künstlichen Immunisierung.

Nach unseren Beobachtungen sind Tiere jeden Alters für die Infektion mit dem Erreger des ansteckenden Verkalbens empfänglich. Vielfach wird die Meinung vertreten, daß jüngere, und namentlich solche Tiere, die zum zweiten Male kalben, für die Infektion empfänglicher seien als ältere Kühe, die schon öfters gekalbt haben. Genaue statistische Angaben hierüber liegen jedoch nicht vor. Wenn bisweilen Unterschiede in diesem Sinne festgestellt werden konnten, so sind diese vielleicht auch darauf zurückzuführen, daß in den Beständen die Zahl der jüngeren Tiere in der Regel eine größere ist als die der älteren. Bemerkenswert ist, daß in einigen der von uns geimpften Beständen gerade unter den älteren Tieren das Verkalben häufiger beobachtet wurds als unter den jüngeren. Besonders zu beachten ist in dieser Hinsicht der Stand des ansteckenden Verkalbens im Viehbestande „P. M.“, der im Impfplan der Tabelle II veranschaulicht worden ist. Aus dem Impfplan ist zu ersehen, daß in diesem Bestand bei den Kühen im Alter von 5—11 Jahren die meisten Abortusfälle vorkamen, während von den jüngeren Tieren nur eine 4 jährige Kuh verkalbt hatte. In anderen Beständen verkalbten wiederum die jüngeren Tiere mehr als die älteren. In den meisten Viehbeständen war jedoch die Zahl der Abortusfälle auf die verschiedenen Altersklassen der Tiere ziemlich gleichmäßig verteilt.

Irgendwelche Beziehungen zwischen dem Alter der Tiere und ihrer **Empfänglichkeit** gegenüber einer Infektion mit dem Erreger des ansteckenden Verkalbens konnten somit nicht festgestellt werden. Desgleichen konnten keinerlei Anhaltspunkte dafür gewonnen werden, daß zwischen älteren und jüngeren Tieren, soweit sie im geschlechtsreifen Alter standen, Unterschiede beim Zustandekommen der natürlichen oder künstlichen **Immunität** bestehen. Dagegen war die künstliche Immunisierung von Kälbern und von Rindern, die sich noch nicht im geschlechtsreifen Alter befanden, nur in den seltensten Fällen von Erfolg begleitet.

VIII. Beziehungen zwischen der Trächtigkeitsdauer und dem Eintritt des Verkalbens bei unbehandelten und bei geimpften Tieren.

Zur Beantwortung der Frage, in welchen Trächtigkeitsmonaten der Abortus am häufigsten eintrete, haben Zwick und Zeller im Verlaufe ihrer früheren Untersuchungen bei 342 Tieren genaue Erhebungen über den Zeitpunkt des Deckens und über den Eintritt des Verkalbens angestellt. Sie gelangten dabei zu folgendem Ergebnis:

im	3. Trächtigkeitsmonat	verkalbten	5	Kühe	=	1,46 %
„	4.	„ „	14	„	=	4,09 „
„	5.	„ „	29	„	=	8,48 „
„	6.	„ „	48	„	=	14,04 „
„	7.	„ „	173	„	=	50,51 „
„	8.	„ „	58	„	=	16,96 „
„	9.	„ „	15	„	=	4,38 „

Bei unseren Immunisierungsversuchen haben wir bei 573 vor der Impfung erfolgten Abortusfällen auf Grund genauer Angaben fast das gleiche Verhältnis feststellen können. Es verkalbten nämlich:

im	3. Trächtigkeitsmonat	4	Kühe	=	0,69 %
„	4. „	22	„	=	4,00 „
„	5. „	52	„	=	9,07 „
„	6. „	89	„	=	15,53 „
„	7. „	287	„	=	50,08 „
„	8. „	104	„	=	18,15 „
„	9. „	15	„	=	2,61 „

Die beiden Zusammenstellungen zeigen, daß über die Hälfte der Abortusfälle auf den 7. Trächtigkeitsmonat entfällt.

Ein ganz anderes Bild bietet dagegen die Zahl der Abortusfälle in ihrer Beziehung zur Trächtigkeitsdauer bei den mit Impfstoff behandelten Tieren.

Zum Vergleich sind in der folgenden Tabelle die Ergebnisse der Beobachtungen bei den geimpften Tieren und bei den Kontrolltieren einander gegenübergestellt.

	geimpfte Tiere	Kontrolltiere
im 3. Trächtigkeitsmonat verkalbten	— = —	3 = 1,30 %
„ 4. „ „	1 = 0,56 %	8 = 3,47 „
„ 5. „ „	2 = 1,12 „	24 = 10,43 „
„ 6. „ „	7 = 3,94 „	30 = 13,04 „
„ 7. „ „	22 = 12,42 „	114 = 49,56 „
„ 8. „ „	96 = 54,23 „	41 = 17,82 „
„ 9. „ „	49 = 27,68 „	10 = 4,34 „
	177	230

Die letztere Zusammenstellung zeigt, daß bei den Tieren, die trotz der Impfung verkalben, der Abortus viel später eintritt als bei den Kontrolltieren. Die Verlängerung der Trächtigkeitsdauer bei den geimpften Tieren ist zweifellos auf eine, wenn auch ungenügende, immunisierende Wirkung der Impfstoffe zurückzuführen. Die gleiche Erscheinung konnten schon Penberthy, Sand und Bang bei Kühen beobachten, die wiederholt verkalbten. Sie haben die fortschreitende Verlängerung der Inkubationsfrist als eine bei den mehrmals abortierenden Kühen sich allmählich geltend machende, natürliche Immunität gedeutet.

IX. Über den Einfluß der Trächtigkeit auf das Zustandekommen einer natürlichen und künstlichen Immunität.

Bei trächtigen Tieren hat eine wiederholte natürliche Aufnahme von Abortusbacillen keine natürliche Immunität, sondern fast regelmäßig Abortus zur Folge.

Die Frage, ob nichtträchtige Tiere durch die Aufnahme des Infektionsstoffs mit dem Futter oder durch die Ansteckung auf anderem Wege eine natürliche Immunität gegen das ansteckende Verkalben erwerben können, ist noch nicht hinreichend geklärt. Alle bei unseren Versuchen gesammelten Erfahrungen sprechen jedoch gegen diese Annahme. So kam es z. B. häufig vor, daß nichtträchtige Kühe, die zwischen abortierenden Tieren standen und die, wie der durch die Agglutination und Komplementbindung festgestellte hohe Titer ihres Serums zeigte, Gelegenheit hatten, den Infektionsstoff in sich aufzunehmen, nicht etwa immun waren, sondern verkalbten, wenn sie einige Monate später gedeckt wurden.

Daraus wäre zu schließen, daß die auf natürlichem Wege erfolgte Aufnahme des Infektionsstoffs zur Herbeiführung einer natürlichen Immunität nicht ausreicht, jedoch genügt, um bei Tieren, die längere Zeit später gedeckt werden, Abortus horvorzurufen.

Es muß daher angenommen werden, daß, wenngleich durch die natürliche Aufnahme des Ansteckungsstoffs bei nichtträchtigen Tieren eine geringgradige Immunität zustandegekommen ist, die im Körper noch vorhandenen oder vielleicht von neuem eingedrungenen Abortusbacillen sich trotzdem im Uterus der später trächtig gewordenen Tiere ansiedeln und dort die Veränderungen hervorrufen können, die schließlich zum Abortus führen. Nach Ansiedelung des Erregers im trächtigen Uterus kommt es

immer zu einer ungeheueren Vermehrung der Abortusbacillen im Gewebe der fötalen und mütterlichen Placenta. Durch die mächtige Überschwemmung des Körpers mit Bacillen wird gleichzeitig die Bildung von Immunkörpern in hohem Maße angeregt. Die Immunkörperbildung ist in diesem Fall eine viel stärkere als bei der künstlichen Immunisierung und führt schließlich zu einer dauernden natürlichen Immunität. Diese natürliche Immunität tritt meistens nach 2maligem, seltener schon nach 1maligem oder erst nach 3maligem Verkalben ein. Ein 4maliges Verkalben wird nur ganz ausnahmsweise beobachtet.

Die Trächtigkeit spielt also bei der Entstehung der natürlichen Immunität gegen das ansteckende Verkalben eine große Rolle.

Was nun das Zustandekommen der künstlichen Immunität betrifft, so weist schon der Umstand, daß Tiere im jugendlichen Alter nur selten oder gar nicht gegen das Verkalben geschützt werden können, darauf hin, daß die volle Entwicklung der Geschlechtsorgane für die künstliche Erzeugung der Immunität von großer Wichtigkeit ist. Wenn die weitere bei den Impfversuchen erhobene Vermutung stimmt, daß die Zellen des Uterus und der Placenta in erster Linie an der Bildung der Immunkörper beteiligt sind, so kommt der Trächtigkeit auch bei der künstlichen Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben eine große Bedeutung zu. Diese Annahme findet eine Stütze in der Tatsache, daß von den Abortusfällen, die bei den künstlich immunisierten Tieren nach der Impfung verzeichnet worden sind, weitaus die größte Zahl auf die im nichtträchtigen Zustand sowie auf die im 7.—9. Monat der Trächtigkeit geimpften Tiesen entfallen. Die Zahl der Abortusfälle bei den im 2.—6. Monat der Trächtigkeit geimpften Tiere war dagegen bedeutend geringer. Wenn bei den im 7.—9. Monat der Trächtigkeit geimpften Tieren das Verkalben häufiger beobachtet wurde, als bei den in einem jüngeren Trächtigkeitsstadium stehenden Tieren, so ist dies darauf zurückzuführen, daß gerade unter jener Gruppe sich vielfach infizierte Tiere befinden, bei denen die Veränderungen im Uterus zu weit vorgeschritten sind, als daß sie durch eine Behandlung noch behoben werden könnten. Eine Impfung vermag bei solchen Tieren das Verkalben nicht mehr aufzuhalten. Bei nicht infizierten, im 7.—9. Monat der Trächtigkeit stehenden Tieren läßt dagegen die Behandlung mit geeigneten Impfstoffen unseres Erachtens eine reichlichere Antikörperbildung erwarten als bei Tieren mit einer kürzeren Trächtigkeitsdauer, oder bei nichtträchtigen Tieren. Die künstliche Immunisierung trächtiger Tiere gelingt demnach leichter, als die nichtträchtiger Tiere. Eine künstliche Immunität kann aber auch bei nichtträchtigen, im geschlechtsreifen Alter stehenden Tieren ebensogut erzeugt werden, wie bei trächtigen Tieren. Sie wird jedoch bei der Impfung der ersteren mit abgetöteter Kultur oder mit lebender Kultur + Immunserum mehr Einspritzungen und vielleicht eine höhere Dosierung der Impfstoffe erfordern als bei trächtigen Tieren.

Aus den Ausführungen geht demnach hervor, daß die Trächtigkeit sowohl das Zustandekommen einer natürlichen Immunität, als auch den Erfolg einer künstlichen Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben günstig beeinflußt.

X. Die bei infizierten Tieren beobachtete Dauerausscheidung von Abortusbacillen in ihrer Beziehung zur natürlichen und künstlichen Immunität.

Zwick und Krage haben festgestellt, daß infizierte Tiere Abortusbacillen mit der Milch ausscheiden können. Die Frage, wie lange eine solche Ausscheidung von Abortusbacillen nach dem Verkalben fortdauert, ist noch nicht völlig geklärt. Verfasser konnte in einem Fall 2 Jahre und 11 Monate und in einem andern Fall 3 Jahre und 4 Monate nach erfolgtem Abortus den Erreger in der Milch der Tiere noch nachweisen. Umfangreiche Untersuchungen, die im Reichsgesundheitsamt über die Ausscheidung der Abortusbacillen mit der Milch, mit dem Harn und mit den Fäces von natürlich und künstlich infizierten Tieren angestellt worden sind, konnten infolge des Krieges nicht abgeschlossen werden. Solange nicht alle Fragen der Bakterienausscheidung bei abortusinfizierten Tieren vollständig geklärt sind, müssen sämtliche infizierten Tiere und im besonderen diejenigen, die verkalbt haben, als Dauerausscheider von Abortusbacillen betrachtet werden. Zweifellos spielt die Dauerausscheidung in epidemiologischer Hinsicht eine große Rolle und es erhebt sich gleichzeitig die Frage, ob Tiere, die längere Zeit hindurch Gelegenheit zur Aufnahme reichlicher Mengen Ansteckungsstoffs haben, nicht vielleicht doch nach einer gewissen Zeit eine natürliche Immunität erwerben. Bei unseren Versuchen konnten indessen, wie früher erwähnt, keinerlei Anhaltspunkte für das Zustandekommen einer natürlichen Immunität auf diesem Wege gewonnen werden. Verschiedene Tatsachen sprechen sogar gegen eine solche Annahme. Wir konnten nämlich häufig beobachten, daß Kälber, die von Abortuskühen stammten, später, nachdem sie ins geschlechtsreife Alter gekommen und gedeckt worden waren, ebenfalls verkalbten, also durch die länger dauernde Aufnahme der Abortusbacillen mit der Milch nicht immun geworden waren. Ferner ist es bei unseren Versuchen häufig vorgekommen, daß früher nicht infizierte, nichtträchtige Tiere, die neben oder zwischen Dauerausscheidern standen, und bei denen der hohe Agglutinationstiter ihres Serums auf die erfolgte Aufnahme von Abortusbacillen schließen ließ, später verkalbt haben.

In der bei infizierten Tieren beobachteten Dauerausscheidung von Abortusbacillen ist demnach eher die Gefahr einer Ansteckung, als die Möglichkeit einer natürlichen Immunisierung nebenstehender, abortusfreier Tiere zu erblicken.

Ob bei nichtinfizierten Tieren, die mit lebenden Abortusbacillen künstlich immunisiert werden, eine dauernde Ausscheidung der Bakterien erfolgt, oder ob die Bakterien im Tierkörper allmählich abgetötet werden, ist noch nicht untersucht worden. Bang hat empfohlen, die mit lebender Kultur geimpften Tiere frühestens 8 Wochen nach der Impfung zum Bullen zu führen. Er hat diese Frist nach eigenen Erfahrungen festgesetzt, in der Annahme, daß nach dieser Zeit die dem Tierkörper einverleibten Abortusbacillen vollständig unschädlich gemacht seien. Nach unseren Erfahrungen genügt dieser Zeitraum vollkommen, um jede Gefahr späteren Verkalbens auszuschließen. Die Frage, ob es ratsam ist, abortusfreie Tiere mit lebender Abortuskultur zu immunisieren, kann nur im Zusammenhang mit anderen Fragen beantwortet werden und wird deshalb weiter unten besprochen.

XI. Die Immunisierung von infizierten Tieren.

Aus den Zusammenstellungen der Versuchsergebnisse ist zu ersehen, daß Tiere, die infolge der Infektion mit dem Erreger des ansteckenden Verkalbens 1 mal verworfen hatten, durch die nachfolgende künstliche Immunisierung in vielen Fällen vor einem neuen Abortus geschützt werden konnten.

Um nun zu erfahren, ob durch eine der Impfung vorangegangene Infektion mit dem Erreger des ansteckenden Verkalbens die nachfolgende künstliche Immunisierung irgendwie beeinflußt wird, sind die Gesamtergebnisse der Impfungen einer näheren Prüfung daraufhin unterzogen worden, die in folgender Zusammenstellung wiedergegeben ist.

Bemerkung	Kontroll-tiere	Geimpft mit Impfstoff			
		A	A + S	C	C + S
Vor der Impfung haben 1 mal verkalbt	175	164	32	128	9
Nach der Impfung haben von diesen Tieren zum 2. Mal verkalbt	113 = 64,56 %	39 = 23,77 %	6 = 18,75 %	6 = 4,68 %	2 = 22,22 %
		zusammen 53 = 15,91 %			
Vor der Impfung haben nicht verkalbt	910	722	115	312	46
Nach der Impfung haben von diesen Tieren zum 1. Mal verkalbt	132 = 14,50 %	78 = 10,80 %	14 = 12,17 %	22 = 7,05 %	1 = 2,17 %
		zusammen 115 = 8,16 %			

Betrachtet man die Zahl der Abortusfälle bei den Kontrolltieren als normale Durchschnittszahl, so ergibt sich aus der Zusammenstellung, daß durch die künstliche Immunisierung die nichtinfizierten Tiere nicht in dem Maße vor dem Verkalben geschützt werden können, wie die Tiere, die vor der Impfung 1 mal verworfen hatten, vor der Wiederholung des Abortus geschützt werden. Ein Vergleich der Zahlen zeigt nämlich, daß von den Kontrolltieren, die einmal verworfen hatten und nicht geimpft worden waren, 64,56 % wieder verkalbten, während von den behandelten Tieren nur 15,91 % (48,65 % weniger) zum 2. Mal verkalbten.

Bei den Tieren, die vor der Impfung nicht verkalbt hatten, konnte nach der Immunisierung nur eine Verminderung der Abortusfälle von 14,50 % auf 8,16 % (um 5,34 %) verzeichnet werden.

Das Wesentliche der Abortusimpfung liegt also in einer Unterstützung und Beschleunigung der auf natürliche Weise nach dem Verkalben zustandekommenden Immunität.

XII. Dauer der Immunität.

Beobachtungen über die Dauer der Immunität bei den künstlich immunisierten Tieren anzustellen, wird meistens durch den in den Viehbeständen herrschenden

Wechsel der Tiere erschwert. Bei unseren Versuchen kamen noch die Wirkungen des Krieges hinzu, der die Viehzucht stark beeinträchtigte und eine erhebliche Einschränkung der Viehhaltung zur Folge hatte. Aus diesen Gründen konnten in einer großen Zahl von Fällen keine Angaben darüber erhalten werden, ob die Impfimmunität nur eine vorübergehende oder eine dauernde war.

Nach Erhebungen, die wir zur Beantwortung dieser Frage angestellt haben, scheint eine einmalige Immunisierung mit lebenden Abortusbacillen einen länger dauernden Schutz zu hinterlassen als die Impfung mit abgetöteter Kultur. Des öfteren wurde berichtet, daß nach Verlauf von zwei Jahren bei den mit abgetöteter Kultur geimpften Tieren bisweilen neue Abortusfälle zu verzeichnen waren. In andern Beständen, in denen nach dem Vorliegen der Impfergebnisse sämtliche Kontrolltiere mit Abortusimpfstoffen nachbehandelt und alle neu hinzukommenden Tiere fortlaufend geimpft wurden, hörte das Verkalben in der nächst folgenden Trächtigkeitsperiode gänzlich auf. Allerdings wurden in diesen Beständen neben der Impfung noch allgemeine prophylaktische Maßnahmen, namentlich eine regelmäßige Desinfektion der Ställe, zur Bekämpfung des ansteckenden Verkalbens angewandt. Trotzdem muß jedoch das Aufhören des Verkalbens in diesen Fällen auf eine bei den geimpften Tieren künstlich erzeugte, dauernde Immunität zurückgeführt werden. Denn in vielen, nicht fortlaufend geimpften Beständen, in denen der Stand des Verkalbens und die Infektionsmöglichkeiten die gleichen waren, konnten prophylaktische Maßnahmen allein das Vorkommen weiterer Abortusfälle nach der Impfung nicht ganz verhindern.

Soweit unsere Beobachtungen einen Schluß gestatten, scheint infolge der eigenartigen Umstände, die bei der künstlichen Abortusimmunisierung mitspielen, die Dauer der Immunität selbst unter den mit gleichen Impfstoffen geimpften Tieren sehr verschieden zu sein. Nach den von den behandelnden Tierärzten eingesandten Berichten kann die Dauer der Immunität, die nach 2maliger Impfung der Tiere mit abgetöteter Kultur zustandekommt, auf höchstens zwei Jahre bemessen werden.

Lebende Kultur übt eine stärkere und nachhaltigere immunisierende Wirkung aus als abgetötete Kultur.

Eine richtig angewandte **einmalige** Impfung mit lebender Kultur genügt in der Regel, um infizierte Tiere, die **einmal** verkalbt haben, gegen einen zweiten Abortus zu schützen, sie vermag jedoch nichtinfizierten Tieren nicht immer einen Schutz gegen die natürliche Abortusinfektion zu verleihen.

Um bei nichtinfizierten Tieren eine **sichere** und **dauernde** Immunität gegen das ansteckende Verkalben zu erzeugen, müssen diese **während** mehrerer Trächtigkeitsperioden entweder mit abgetöteter Kultur oder mit lebender Kultur + Immunserum geimpft oder **zwischen** mehreren Trächtigkeitsperioden mit lebender Kultur behandelt werden.

XIII. Über den Einfluß der Abortusimpfung auf die Folgeerscheinungen des ansteckenden Verkalbens.

Die als Folgeerscheinungen des ansteckenden Verkalbens aufzufassenden Leiden, wie das Zurückhalten der Nachgeburt, das Umrindern und die Sterilität der Rinder, scheinen durch die Abortusimpfungen nicht unmittelbar beeinflußt zu werden.

Das Zurückhalten der Nachgeburt verschwindet meist dann, wenn das Verkalben aufhört.

Was das Umrindern und die Sterilität betrifft, so bestehen diese beiden Leiden nach der Impfung häufig noch weiter fort. Sie haben jedenfalls ihre Ursache in einer durch die Abortusbacillen hervorgerufenen chronischen Veränderung der weiblichen Genitalien, namentlich der Gebärmutter und der Eierstöcke. Von der Anwendung der aus abgetöteter Kultur, Abortusbacillenextrakt oder lebender Kultur bestehender Impfstoffe ist eine günstige Wirkung gegenüber diesen beiden Leiden kaum zu erhoffen. Dagegen wäre vielleicht eine günstige Beeinflussung durch eine mit einer lokalen Behandlung Hand in Hand gehenden Impfung mit Abortusimmunserum zu erzielen. Weitere Untersuchungen nach dieser Richtung sind jedoch nicht angestellt worden.

XIV. Heilung des Durchfalls neugeborener Kälber mit Abortusimmunserum.

In abortusverseuchten Viehbeständen wird häufig beobachtet, daß die Kälber bald nach ihrer Geburt an Durchfall erkranken und an dessen Folgen meistens eingehen.

Zwick hat wiederholt die Ansicht geäußert, daß die Ursache des Durchfalls in abortusverseuchten Beständen wahrscheinlich in einer Infektion der Kälber mit dem Bangschen Abortusbacillus zu suchen sei. Diese Ansicht findet eine Stütze in verschiedenen von den behandelnden Tierärzten eingesandten Berichten (vergl. z. B. die Angaben über die Ergebnisse der Abortusimpfungen im 34. Bestande). Bekanntlich zeigen ja auch die verworfenen Kälber fast regelmäßig die Erscheinungen einer Magen- und Darmentzündung. Die ausgetragenen Kälber, die nach ihrer Geburt an Durchfall erkranken, stammen vielfach von infizierten Kühen, die früher verkalbt hatten. Eine Infektion solcher Kälber kann entweder intrauterin und während der Geburt, oder erst nach der Geburt, durch die Aufnahme infizierter Milch erfolgen.

Um festzustellen, ob der Durchfall der Kälber vielleicht durch die Impfung mit Abortusimmunserum verhütet oder geheilt werden kann, stellten wir in drei Beständen Versuche an neugeborenen Kälbern an. Den Kälbern wurden gleich nach der Geburt 50 ccm Abortusimmunserum subkutan eingespritzt. In allen drei Beständen hörten nach Einführung der Impfung die Erkrankungen der Kälber an Durchfall fast ganz auf. Während vor der Impfung die Mehrzahl der Kälber innerhalb von 14 Tagen nach der Geburt einging oder wegen Hinfälligkeit geschlachtet werden mußte, sind nach der Behandlung mit Abortusimmunserum von insgesamt 76 geimpften Kälbern nur drei an Durchfall verendet. In zwei Fällen wurde aus den Organen der verendeten Kälber ein pathogener Bacillus coli commune, im dritten Fall ein Paracolibacillus gezüchtet.

Die Versuche, neugeborene Kälber durch eine passive Immunisierung mit Abortusserum gegen Durchfall zu schützen, lieferten demnach befriedigende Ergebnisse. Die Vermutung, es könnte sich bei dem in abortusinfizierten Beständen häufig beobachteten Durchfall der Kälber um eine Infektion mit dem Bangschen Bacillus handeln, gewinnt dadurch an Wahrscheinlichkeit.

XV. Impfschädigungen der Tiere.

In Spalte 3 der von uns versandten Impfliste wurde über die nach der Impfung etwa beobachteten Schädigungen der Tiere berichtet. In den meisten Fällen sind Schädigungen der Tiere im Anschluß an die Impfungen nicht aufgetreten und wo solche festgestellt worden sind, blieben sie in der Regel auf einige Tiere des Bestandes und namentlich auf die mit abgetöteter Kultur geimpften Tiere beschränkt.

In einigen Beständen (23, 24, 36, 43) ging der Gesamtmilchertrag nach der zweiten Impfung mit abgetöteter Kultur erheblich zurück. In drei von den erwähnten Fällen erreichte die Gesamtmilchmenge in wenigen Tagen wieder ihre normale Höhe. Nur in einem Falle vergingen 14 Tage, bis die Milchleistung der Tiere wieder die gleiche war wie vor der Impfung. Inwieweit die Angaben über die Verringerung des Milchertrags stimmen, und ob sie nicht vielleicht ihre Ursache in der Fütterung und andern Zufälligkeiten hatten, konnte nicht genau festgestellt werden. Bisweilen erhoben sich Zweifel an ihrer Zuverlässigkeit. So soll z. B. im 49. Bestand der Milchertrag bei einigen mit abgetöteter Kultur und bei einigen mit Impfstoff B (Kontrollimpfstoff) geimpften Tieren nach der Impfung stark gesunken, bei einem mit lebender Kultur geimpften Tier dagegen um 2 Liter gestiegen sein.

Die sonst beobachteten Impfschädigungen bestanden in fünf Einzelfällen in verminderter Freßlust, die in zwei Fällen mit Atembeschwerden, Muskelzittern und Unruheerscheinungen verbunden war. Ferner wurde bei einer Kuh Aufblähen beobachtet und bei einer andern Kuh sollen, was wahrscheinlich auf eine andere Ursache zurückzuführen ist, an den Strichen zahlreiche kleine Blasen entstanden sein.

Am häufigsten wurde von Anschwellungen an der Impfstelle berichtet, die meistens wieder von selbst verschwanden. Nur in drei Fällen entwickelten sich an der Impfstelle Abscesse.

Im allgemeinen wurden jedoch Impfschädigungen bei den Tieren selten beobachtet. Die Impfversuche haben gezeigt, daß selbst große Mengen abgetöteter Bouillonkultur (50—100 ccm) sowie abgetötete Agarkulturabschwemmungen (2 Kolleschalen = 24 Schrägagarkulturen) den Tieren ohne jegliche Gefahr subkutan eingespritzt werden können. Nach der Impfung mit lebender Kultur, die nur in kleineren Mengen von 10 ccm angewandt worden ist, konnten keinerlei Reaktionen an der Impfstelle oder Störungen im Allgemeinbefinden der Tiere festgestellt werden.

XVI. Gesichtspunkte für die praktische Anwendung der Abortusimpfstoffe.

Allgemeines.

Die Impfversuche haben ergeben, daß von einer an ganz jungen Tieren, namentlich an Kälbern vorgenommenen Impfung gegen das ansteckende Verkalben ein Erfolg nicht zu erwarten ist. Ebenso unzweckmäßig erscheint eine passive Immunisierung hochträchtiger Tiere mit künstlich hergestelltem, hochwertigem Abortusimmunserum.

Die Abortusimpfung muß sich daher auf eine aktive Immunisierung der im geschlechtsreifen Alter stehenden trächtigen und nichtträchtigen Tiere beschränken.

Die beste Aussicht auf Erfolg würde unseres Erachtens ein Impfverfahren bieten, bei dem alle nichtinfizierten, nichtträchtigen und trächtigen Tiere, sowie alle infizierten trächtigen Tiere mit lebender Kultur + Immunserum behandelt und alle nichtträchtigen Tiere, die verkalbt haben, mit lebender Kultur geimpft werden. Berücksichtigt man, daß bei unseren Impfversuchen schon nach einer einmaligen Anwendung dieser Impfstoffe eine ganz bedeutende Verminderung der Abortusfälle auf etwa $^1/_4$ der vor der Impfung beobachteten Fälle zu verzeichnen war, so würde von einer zwei- oder mehrmaligen Impfung sicherlich ein Erfolg zu erhoffen sein, der einer völligen Verhütung der Abortusfälle ziemlich nahe käme. Der Einführung dieser Impfmethode in die Praxis steht jedoch die schwierige und kostspielige Herstellung größerer Mengen Immunserums hindernd im Wege.

Das Verfahren wäre daher in der Weise abzuändern, daß alle abortusfreien trächtigen und nichtträchtigen sowie die infizierten trächtigen Tiere anstatt mit lebender Kultur + Immunserum, mit abgetöteter Abortuskultur geimpft würden.

Impfung mit lebender Kultur.

Da lebende Abortusbacillen eine stärkere und nachhaltigere Immunität erzeugen als abgetötete Abortuskultur, muß die Impfung mit lebender Kultur in allen Fällen vorgenommen werden, in denen ihrer Anwendung keine Bedenken entgegenstehen. Die Behandlung mit lebender Kultur, die nur bei nichtträchtigen Tieren angewandt werden kann, darf aber nicht auf bereits infizierte Tiere beschränkt bleiben, sondern muß auch auf solche nichtinfizierte Tiere ausgedehnt werden, die der Ansteckung in erhöhtem Maße ausgesetzt sind und aller Wahrscheinlichkeit nach doch einer natürlichen Infektion anheimfallen würden.

So lange weitere Untersuchungen die Frage der Ausscheidung der Abortusbacillen nicht völlig geklärt haben, müssen alle natürlich infizierten, sowie alle mit lebender Kultur geimpften Tiere als Dauerausscheider betrachtet werden.

Die Frage, ob unter diesen Umständen eine Impfung nichtinfizierter Tiere mit lebender Abortuskultur zu empfehlen ist, muß dahin beantwortet werden, daß in einem stark abortusverseuchten Bestande, in dem die Trennung der infizierten von den abortusfreien Tieren nicht mehr möglich ist, einer Impfung mit lebenden Abortusbacillen Bedenken nicht entgegenstehen. Denn die abortusfreien Tiere würden sich erfahrungsgemäß infolge der reichlichen Ausstreuung des Ansteckungsstoffs im Bestande doch auf natürliche Weise infizieren. Sie würden dann beim Abortus selbst und unmittelbar

danach die Abortusbacillen aus dem Uterus viel reichlicher ausscheiden, als diese nach der Impfung mit lebender Kultur vielleicht später mit der Milch oder auf anderem Wege ausgeschieden werden. Eine rechtzeitige künstliche Immunisierung solcher Tiere mit lebenden Abortusbacillen ist deshalb, wenn das Verkalben dadurch verhindert werden kann, nicht nur empfehlenswert, sondern dringend geboten.

Ganz anders liegen dagegen die Verhältnisse bei abortusfreien Tieren in verseuchten Beständen, in denen sich nur wenig infizierte Tiere befinden, deren Absonderung von den gesunden Tieren durchführbar ist. In solchen Beständen muß die Impfung mit lebender Abortuskultur auf die wenigen, sicher infizierten Tiere beschränkt bleiben. Eine Impfung nichtinfizierter Tiere mit lebenden Abortusbacillen würde neue Bacillenausscheider schaffen und eine Absonderung der infizierten Tiere von den gesunden zwecklos erscheinen lassen.

Bei der Impfung mit lebender Abortuskultur ist noch darauf zu achten, daß die geimpften Tiere frühestens 8 Wochen nach der Impfung zum Bullen geführt werden dürfen. Bei früherer Zulassung besteht die Gefahr, daß die Tiere infolge der Impfung verkalben.

Impfung mit abgetöteter Kultur.

Mit abgetöteter Abortuskultur oder mit Abortusbacillenextrakt sind sämtliche nichtträchtige Tiere zu impfen, die aus irgendwelchen Gründen nicht mit lebenden Abortusbacillen immunisiert werden können.

Ferner muß bei trächtigen Tieren, da die Impfung mit lebender Kultur + Abortusimmunserum unverhältnismäßig kostspielig wäre, ebenfalls abgetötete Abortuskultur oder Abortusbacillenextrakt zur künstlichen Immunisierung benutzt werden. Desgleichen sind männliche Tiere bei der Durchimpfung eines Bestandes mit abgetöteter Kultur zu behandeln.

Bei weiblichen Tieren kann die Impfung in jedem Stadium der Trächtigkeit vorgenommen werden. Bei infizierten Tieren, die den 6. Trächtigkeitsmonat überschritten haben, kann jedoch der Abortus durch die Impfung in der Regel nicht mehr verhütet werden. Da sich bei der Vornahme der Impfung häufig solche Tiere in den abortusverseuchten Beständen befinden, ist ein spontanes Aufhören des Verkalbens nach der Impfung kaum zu erwarten. Es wird vielmehr, selbst nach Anwendung der besten Immunisierungsmethoden, der eine oder andere Abortusfall auch nach der Impfung immer noch vorkommen.

Impfung mit abgeschwächter Abortuskultur und kombinierte Impfmethode.

Weiteren Untersuchungen muß es vorbehalten bleiben, festzustellen, ob nicht zur Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben anstatt mit abgetöteter Kultur lebende Abortusbacillen verwendet werden können, die durch irgendein Verfahren soweit abgeschwächt worden sind, daß sie ihr Infektionsvermögen zwar eingebüßt haben, aber ihre volle immunisierende Kraft noch besitzen.

Versuche, die nach dieser Richtung von uns angestellt worden sind, haben zu einem schlüssigen Ergebnis bis jetzt nicht geführt.

Endlich wäre noch zu prüfen, ob bei trächtigen Tieren nicht ein kombiniertes Verfahren in der Weise angewandt werden könnte, daß zuerst mit abgetöteter und dann mit lebender oder abgeschwächter Kultur geimpft wird.

Wiederholte und fortlaufende Impfung.

Infizierte Tiere, die bereits einmal verkalbt haben, können in der Regel durch eine sachgemäße einmalige Impfung mit lebender Kultur gegen eine Wiederholung des Abortus geschützt werden.

Da in allen übrigen Fällen eine einmalige Impfung sowohl mit lebender als auch mit abgetöteter Kultur nicht genügt, um die Tiere gegen eine natürliche Infektion hinreichend zu schützen, so muß die Abortusimpfung nach einiger Zeit wiederholt werden.

Nach unseren Erfahrungen wird die Bildung von Immunkörpern am meisten gefördert, wenn die zweite Impfung etwa 2 bis 4 Wochen nach der ersten Impfung vorgenommen wird.

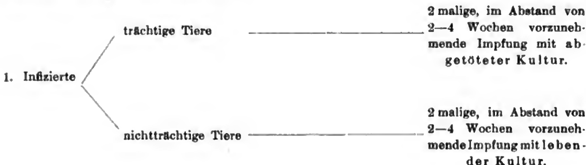
Da nach einer zweimaligen Impfung mit abgetöteter Kultur selten eine länger als zwei Jahre dauernde Immunität erzeugt wird, und auch eine zweimalige Impfung mit lebender Kultur nicht immer einen dauernden Schutz gegen eine natürliche Infektion verleiht, ist es zweckmäßig, stark verseuchte Bestände nach dem Verlauf von 12—24 Monaten einer erneuten Durchimpfung zu unterziehen.

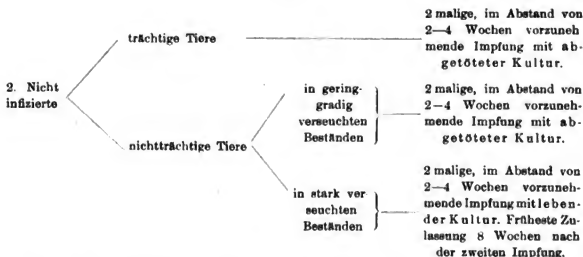
Ein voller Erfolg ist, die Verwendung gut wirkender Impfstoffe vorausgesetzt, bei der Abortusimmunisierung nur dann zu erwarten, wenn einige Jahre hindurch fortlaufend geimpft wird. Die fortlaufende Impfung besteht darin, daß nach beendeter Durchimpfung eines Bestandes alle neu eingestellten und alle im Bestand gezüchteten Tiere, erstere sofort nach der Einstellung, letztere nach Eintritt ins geschlechtsreife Alter, mit Abortusimpfstoffen behandelt werden.

Das aus den Versuchen sich ergebende Impfverfahren.

Ein Impfverfahren muß, um in der Praxis angewandt werden zu können, möglichst einfach und leicht durchführbar sein.

Die einfachste Impfmethode, die auf Grund unserer bisherigen Erfahrungen zur Bekämpfung des ansteckenden Verkalbens vorgeschlagen werden kann, ist in nachfolgendem Schema veranschaulicht:





Die hier beschriebene Impfmethode ist wie alle übrigen bisher bekannten noch eine unvollkommene, bei der weiter eine Verbesserung und sachgemäße Anwendung der Impfstoffe erstrebt werden muß. Eine Unterstützung des Impfverfahrens durch allgemeine hygienische Maßnahmen prophylaktischer und therapeutischer Art ist vorläufig nicht zu entbehren.

XVII. Schluß.

Von den in 123 Viehbeständen an 5136 Rindern angestellten Immunisierungsversuchen gegen das ansteckende Verkalben konnten die Ergebnisse der Impfungen in 80 Beständen mit 3006 Tieren eingehend bearbeitet und zusammengestellt werden.

Von den 3006 Tieren dieser 80 Bestände dienten 1356 Tiere zur Kontrolle, während 1650 mit 5 verschiedenen Impfstoffen geimpft wurden.

Die verwendeten Impfstoffe waren folgende:

1. Abgetötete Abortuskultur für trächtige und nichtträchtige Tiere.
2. Abgetötete Abortuskultur + Immunserum für trächtige Tiere.
3. Lebende Abortuskultur für nichtträchtige Tiere.
4. Lebende Abortuskultur + Immunserum für trächtige Tiere.
5. Abortusimmunserum für hochträchtige Tiere.

Die Ergebnisse der Impfversuche lassen sich in folgenden Schlußsätzen zusammenfassen:

1. Die Gesamtzahl der Abortusfälle ging nach der Impfung von 25,21% auf 15,15% zurück. Da die Zahl der Abortusfälle bei den Kontrolltieren in der gleichen Zeit von 16,31% auf 22,68% gestiegen ist, so ist die Verminderung der Gesamtzahl der Abortusfälle auf die Anwendung der Impfstoffe zurückzuführen.

2. Die Zahl der Abortusfälle ging zurück:

Nach der Impfung mit abgetöteter Kultur	von 18,51%	auf 13,20%
„ „ „ „ abgetöteter Kultur + Serum	„ 21,76 „	„ 13,60 „
„ „ „ „ lebender Kultur	„ 29,09 „	„ 6,36 „
„ „ „ „ lebender Kultur + Serum	„ 16,36 „	„ 5,45 „

3. Die passive Immunisierung hochträchtiger Tiere mit Abortusimmunserum hat völlig versagt.

Über Impfungen mit abgeschwächten Abortuskulturen, die in einigen Beständen angestellt worden sind, konnte ein abschließendes Urteil noch nicht gewonnen werden.

4. Hinsichtlich des Zustandekommens einer künstlichen Immunität konnten Unterschiede zwischen den verschiedenen Altersklassen der im geschlechtsreifen Alter stehenden Tiere nicht festgestellt werden.

Bei Kälbern und noch nicht im geschlechtsreifen Alter stehenden Jungrindern gelingt die künstliche Immunisierung schwerer als bei geschlechtsreifen Tieren.

5. Trächtige Tiere können in jedem Stadium der Trächtigkeit mit abgetöteter Kultur oder mit lebender Kultur + Immunserum (1 : 10) geimpft werden, ohne daß hierdurch der Verlauf der Trächtigkeit nachteilig beeinflußt wird.

6. Die Trächtigkeit fördert bei künstlicher Immunisierung die Bildung von Immunkörpern. Nichtinfizierte trächtige Tiere sind deshalb leichter zu immunisieren als Tiere in nichtträchtigem Zustand.

7. Tiere, die einmal verkalbt haben, können durch eine im nichtträchtigen Zustand vorgenommene, sachgemäße Impfung mit lebender Kultur gegen einen zweiten Abortus geschützt werden.

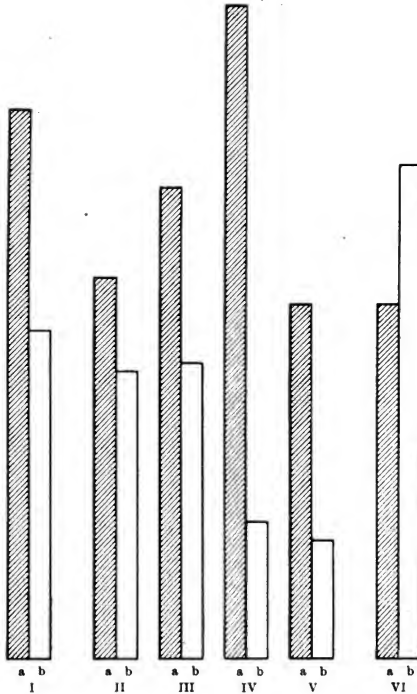
8. Die Dauer der Immunität ist bei den mit gleichen Impfstoffen geimpften Tieren oft sehr verschieden.

Eine zweimalige Impfung mit abgetöteter Kultur führt sowohl bei nichtinfizierten als auch bei infizierten Tieren selten zu einem länger als zwei Jahre dauernden Schutz gegen eine natürliche Ansteckung.

Da auch eine zweimalige Impfung mit lebenden Abortusbacillen bei nichtinfizierten Tieren nicht immer einen dauernden Schutz gegen das ansteckende Verkalben erzeugt, so müssen infizierte Bestände zur Erzielung eines vollen Erfolgs einige Jahre hindurch fortlaufend geimpft werden.

9. Auf das Umrindern und Nichtaufnehmen der Tiere hat die Abortusimpfung keinen unmittelbar günstigen oder ungünstigen Einfluß.

10. Das Festbleiben der Nachgeburt wird mit der Abnahme der Abortusfälle seltener.



Erklärung:

I a Gesamtzahl der Abortusfälle vor der Impfung,
b „ „ „ nach „ „
II a Zahl der Abortusfälle vor der Impfung mit abgetöteter Kultur,
b „ „ „ nach „ „ „ „ „
III a Zahl der Abortusfälle vor der Impfung mit abgetöteter Kultur + Abortusserum,
b „ „ „ nach „ „ „ „ „ „
IV a Zahl der Abortusfälle vor der Impfung mit lebender Abortuskultur,
b „ „ „ nach „ „ „ „ „
V a Zahl der Abortusfälle vor der Impfung mit lebender Kultur + Abortusserum,
b „ „ „ nach „ „ „ „ „ „
VI a Zahl der bei den Kontrolltieren vorgekommenen Abortusfälle vor der Impfung,
b „ „ „ „ „ „ „ nach „ „ .

Literaturverzeichnis.

Bang, B., Die Ätiologie des seuchenhaften („infektiösen") Verwerfens. Zeitschr. f. Tiermedizin Bd. I, S. 241—278. 1897.

Derselbe, Das seuchenhafte Verwerfen der Rinder. Archiv f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilkunde Bd. 33, Heft 3. S. 312—326. 1907.

Bang, O., Schutzimpfung gegen den infektiösen Abortus. Handbuch der Serumtherapie von Klimmer und Wolff-Eisner Bd. 2, S. 211—222. 1911.

Büchli, K., Das ansteckende Verwerfen beim Rind (Abortus infectiosus bovis). Auszugsweise aus dem Holländischen wiedergegeben von E. Bass-Görlitz. Deutsche Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 27, Nr. 6, S. 47—51. 1919.

Dalkiewicz, M., Ergebnisse der dreijährigen Versuche auf dem Gebiete der Bekämpfung des Abortus epizooticus in Galizien. Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 32, Nr. 47, 48 und 49, S. 553, 565 und 580. 1916.

Hesse, Der Bakterienextrakt gegen das seuchenhafte Verwerfen usw. Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 26, Nr. 13, S. 280—281. 1910.

Piorkowski, Lymphe gegen seuchenhaftes Verwerfen. Berl. Tierärztl. Wochenschr, Jahrg. 26, Nr. 13, S. 279—280. 1910.

Report of the Departmental Committee on Epizootic Abortion in Cattle and Appendix to Part I. Epizootic Abortion in Cattle. London 1909.

Report of the Departmental Commitee on Epizootic Abortion. The Journal of Comp. Path. and Therap. Vol. XXIII, Part. 4, S. 370 und The Journ. of the Board of Agriculture. September 1910.

Schreiber, Über den infektiösen Abortus der Rinder und seine Bekämpfung mittels Impfung. Berl. Tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 28, Nr. 45, S. 827. 1912.

Zwick und Zeller, Über den infektiösen Abortus des Rindes. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. XLIII, Heft 1, 1912.

Die Diagnose und Bekämpfung der Rotzkrankheit mit Hilfe der Malleinisierung und der Blutuntersuchung.

Von

Dr. med. vet. Cl. Giese,

preußischem Stabsveterinär, kommandiert zum Reichsgesundheitsamte.

Meine Tätigkeit auf dem Gebiete der Rotzbekämpfung während des Krieges und meine experimentelle Tätigkeit in der Veterinärabteilung des Reichsgesundheitsamtes haben mir reichlich Gelegenheit gegeben, die verschiedenen auf dem Gebiete der Rotzbekämpfung literarisch niedergelegten Ansichten auf ihren praktischen Wert hin zu prüfen. Die Ergebnisse dieser Prüfungen sind den nachstehenden Ausführungen zu entnehmen.

I. Malleinisierung.

Das Mallein, das zweitälteste spezifische diagnostische Hilfsmittel, wurde in Anlehnung an das Tuberkulin von R. Koch alsbald nach Bekanntgabe des letzteren im Jahre 1890 zuerst von Helman (1, 2) in St. Petersburg und Kalning (3, 4) in Dorpat hergestellt. Die Herstellung der heute verwandten Präparate (flüssiges Mallein und Trockenmallein) ist identisch mit den von R. Koch angegebenen Methoden zur Herstellung des Tuberkulins. In Deutschland wird bei der Herstellung des flüssigen Malleins nach der Troesterschen Vorschrift (5) folgendermaßen verfahren:

10 Pfund feingehacktes, fettfreies Fleisch werden mit 10 Liter Wasser unter Zusatz von 0,5 % Kochsalz etwa 3 Stunden lang gekocht. Alsdann wird das verdunstete Wasser ersetzt und das Fleischwasser filtriert. Nun gibt man 0,1 % Pepton hinzu und sterilisiert im Autoklaven oder Dampftopf etwa 3 Stunden lang, neutralisiert mit Natronlauge und filtriert. Auf je 1 Liter Bouillon setzt man 20 ccm Glycerin hinzu und sterilisiert an zwei aufeinanderfolgenden Tagen 2—3 Stunden. Die fertige Bouillon wird mit Hilfe von Glasschwimmern mit ungefähr 3—4 Tage alten Rotzbacillen beimpft. Mit größter Sorgfalt ist darauf zu achten, daß die benutzten Schrägagarkulturen tatsächlich Reinkulturen von Rotzbacillen darstellen; eine Vorbedingung, die sich durchaus nicht leicht erfüllen läßt. Die beimpften Kolben mit 5 Liter Inhalt stellt man 3 Wochen in den Brutraum. Sodann wird die Bouillonkultur nach mikroskopischer Prüfung auf Reinheit durch Sterilisieren abgetötet und die Flüssigkeit in großen Schalen auf dem Wasserbade bis auf den 10. bis 15. Teil des Volumens eingedampft. Das so gewonnene Rohmallein läßt man mehrere Tage zur Klärung stehen und gießt es alsdann vorsichtig vom Bodensatz ab; Filtrieren setzt die Wirksamkeit des Malleins etwas herab. Fertiges Mallein ist leicht getrübt. Vor der Abgabe erfolgt eine Prüfung an mehreren Kontrollpferden, sowohl an gesunden als an chronisch rotzkranken.

Die Malleine sind lange Zeit wirksam, wenn sie vor Licht geschützt und kühl aufbewahrt werden; für das Fothsche Trockenmallein liegen in dieser Beziehung Erfahrungen über einen Zeitraum von 15 Jahren, für das flüssige Mallein von

Wladimiroff von 17 Jahren vor. Ich hatte während des Krieges im Laboratorium der Militär-Veterinär-Akademie Gelegenheit, mit einem 17 Jahre alten flüssigen Mallein von Wladimiroff die Augenprobe bei zwei rotzkranken Versuchspferden vorzunehmen und konnte feststellen, daß das Mallein seine Wirksamkeit nicht verloren hatte. Leider läßt sich ein konstantes und gleichwertiges Mallein nicht herstellen, da es an einer zuverlässigen Auswertungsmethode fehlt. Die Erfahrung hat aber gelehrt, daß die Malleine für die Diagnostik völlig ausreichen, wenn sie aus nicht verunreinigten Rotzbacillenkulturen gewonnen worden sind. Die Reinzüchtung der Rotzbacillen erfordert eine ganz besondere Sorgfalt, denn wir sind gar nicht in der Lage, alle Verunreinigungen nachweisen zu können. Bislang ist die biologische Prüfung des Malleins nur eine qualitative, d. h. es kann nur festgestellt werden, daß das Präparat die für das Mallein charakteristischen allergischen Reaktionen (Subcutan-, Augen- und Hautprobe) an rotzkranken Pferden hervorruft; zu dieser Prüfung müssen rotzkranke Pferde gehalten werden. Die quantitative Prüfung auf den Gehalt an spezifischen Stoffen ist nur wenig studiert. Von Schnürer (6) ist wiederum in Anlehnung an die entsprechenden Untersuchungen mit Tuberkulin angegeben worden, daß die Stärke des Malleins durch Messung der auftretenden Schwellung nach intracutaner Einspritzung bei rotzkranken Pferden festgestellt werden kann; des weiteren haben Schreiber und Stickdorn (7) eine Auswertungsmethode des Malleins veröffentlicht, nach welcher die Komplementbindungsmethode einen gleichmäßigen Prüfungsstab für die Stärke des Malleins abgeben soll. Von der Prüfung an rotzkranken Meerschweinchen wird behauptet, daß sie ungeeignet sei (Malm [8]).

Für die Rotzdiagnostik sind im Gebrauch die subcutane Malleinprobe, die Malleinaugenprobe und die Malleinhautprobe. Besondere Bedeutung haben die Subcutanprobe und die Augenprobe erlangt. — Die älteste Methode ist die subcutane Malleinprobe; sie setzt sich zusammen:

1. aus der thermischen Reaktion,
2. aus der lokalen Reaktion und
3. aus der allgemeinen Reaktion.

Die Temperatnrerhöhnng beginnt bei einer positiven Reaktion in der Regel 4—8 Stnnden nach der Einspritzung und erreicht bei ziemlich schnellem Ansteigen nach 8—14 Stunden ihren Höhepunkt (40—42°); auf dieser Höhe hält sich das Fieber mit einzelnen Schwankungen einige Stunden lang und fällt dann allmählich wieder zur Norm; sehr oft wird jedoch noch eine zweite Temperatursteigerung beobachtet, die an Intensität der ersten in der Regel nachsteht, sie jedoch auch übertreffen kann.

Die lokale Reaktion besteht in einer mehr oder weniger umfangreichen Anschwellnng an der Impfstelle, die schmerzhaft, anfangs umschrieben, derb und vermehrt warm, später mehr diffus und teigig ist. Sie ist beim positiven Ausfall der Reaktion stets vorhanden und beginnt im allgemeinen 6—10 Stunden nach der Einspritzung, um erst innerhalb von 3 Tagen abzuklingen.

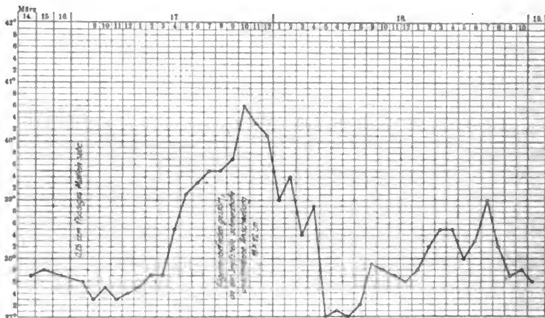
Die allgemeine Reaktion äußert sich in Appetitstörung, Beschleunigung der Herztätigkeit und Atmung, Mattigkeit, Benommenheit und Muskelzittern.

Bei der Beurteilung der Snbcutanprobe sind die Ergebnisse der thermiscben, lokalen und allgemeinen Reaktion zu berücksichtigen. Die Reaktion gilt als positiv, wenn die Temperatur des fieberfreien Tieres nach der Einspritzung um mindestens 2° und mehr steigt und 40° überschreitet; wenn die Temperatursteigerung nur 1,5—1,9° beträgt, ist die Reaktion auch als positiv anzusehen, sofern die lokale und allgemeine Reaktion deutlich ausgeprägt ist (Hutyra und Marek [9]). Die Reaktion gilt als negativ, wenn die Temperatur 39° nicht überschreitet und eine lokale und allgemeine Reaktion ausbleibt.

Um den diagnostischen Wert der subcutanen Malleinprobe ist lange Zeit gestritten worden: von den meisten Forschern wird der Wert dieser Methode anerkannt; einer ihrer wenigen Gegner ist Schütz (10). Erfolgreiche Rotztilgungen aber, die in verschiedenen Ländern unter systematischer Anwendung der subcutanen Methode mit flüssigem Mallein durchgeführt worden sind, sind ein Beweis für die Brauchbarkeit dieses Verfahrens (Drouin [11]). In Deutschland ist infolge Einführung der serodiagnostischen Methoden eine endgültige Klärung der Frage des diagnostischen Wertes der Subcutanprobe nicht erfolgt. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die bei uns in den früheren Jahren beobachteten Fehldiagnosen und ungünstigen Erfahrungen — ähnlich wie bei der Augenprobe — zum Teil auf mangelhafte Malleinpräparate zurückzuführen sind; aber auch die früher nicht berücksichtigte Tatsache, daß die Reaktion positiv ausfallen kann, wenn nur eine Rotzinfektion ohne Bildung nachweisbarer rotziger Veränderungen stattgefunden hat, und die im allgemeinen bestrittene Möglichkeit einer Gesamtheilung der Rotzkrankheit sowie die früher nicht anerkannte Verkalkungsmöglichkeit der Rotzknoten mögen nicht wenige frühere Fehldiagnosen bei der subcutanen Methode mitverursacht haben. Dazu kam ferner noch der Umstand, daß bei der Beurteilung häufig nur die Fieberkurve (thermische Reaktion) verwendet und die gegenseitige Abwägung der thermischen, lokalen und allgemeinen Reaktion nicht berücksichtigt wurde.

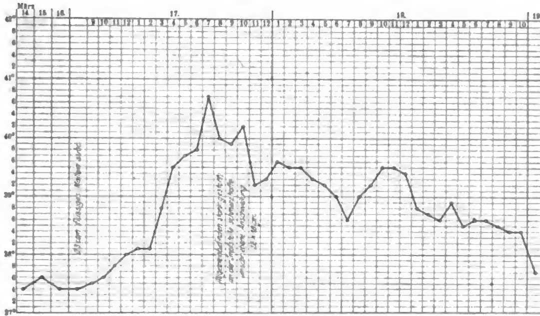
Ich hatte Gelegenheit, mit flüssigem Mallein vom bakteriologischen Laboratorium der Militär-Veterinär-Akademie bezw. vom Reichsgesundheitsamte bei vier rotzkranken Versuchspferden, bei drei durch die serologischen Untersuchungsmethoden wiederholt als rotzverdächtig befundenen Pferden sowie bei fünf gesunden Versuchspferden die subcutane Malleinisierung vorzunehmen und die Reaktion zu beobachten. Ich lasse die einzelnen Fälle und Kurven hier folgen:

Nr. 1 (rotzkrankes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 1).



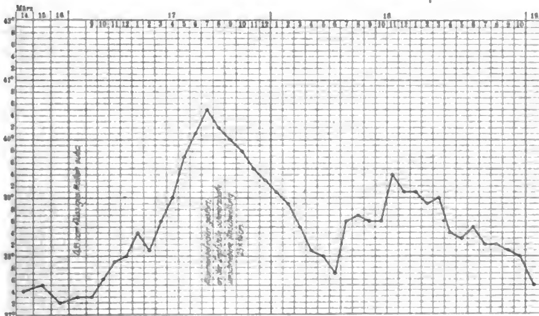
Kurve Nr. 1.

Nr. 2 (rotzkrankes Versuchspferd) erhält 0,3 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 2).



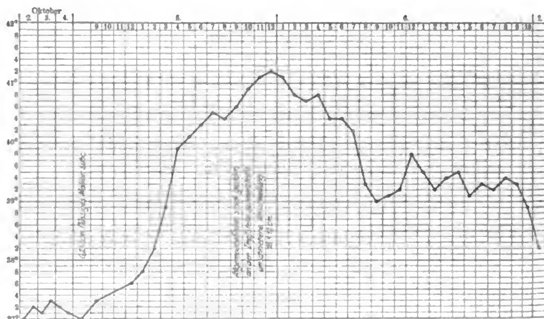
Kurve Nr. 2.

Nr. 3 (rotzkrankes Versuchspferd) erhält 0,35 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 3).



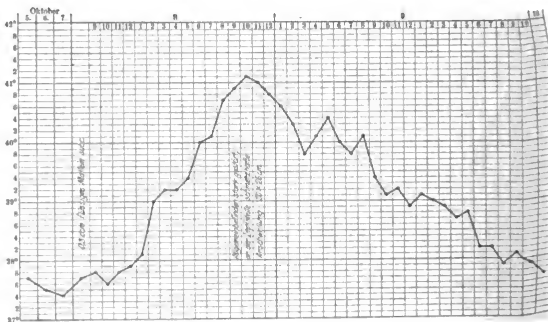
Kurve Nr. 3.

Nr. 4 (rotzkrankes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 4).



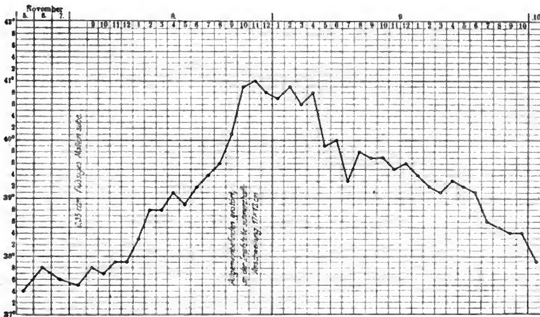
Kurve Nr. 4.

Nr. 5 (durch mehrfache Blutuntersuchungen als rotzverdächtig erkannt; wiederholt ausgeführte Augenproben teils negativ, teils zweifelhaft) erhält 0,3 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 5).



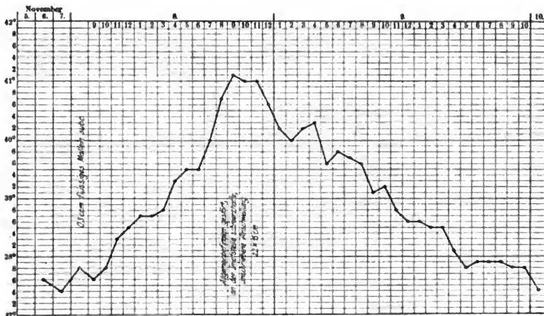
Kurve Nr. 5.

Nr 6 (durch wiederholte Blutuntersuchungen als rotzverdächtig erkannt, mehrfache Augenproben teils negativ, teils zweifelhaft) erhält 0,35 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 6).



Kurve Nr. 6.

Nr. 7 (durch mehrfache Blutuntersuchungen als rotzverdächtig erkannt; wiederholt ausgeführte Augenproben stets zweifelhaft) erhält 0,3 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 7).



Kurve Nr. 7.

Die Zerlegung der Pferde Nr. 2, 5, 6, 7 ergab Rotz und zwar bei

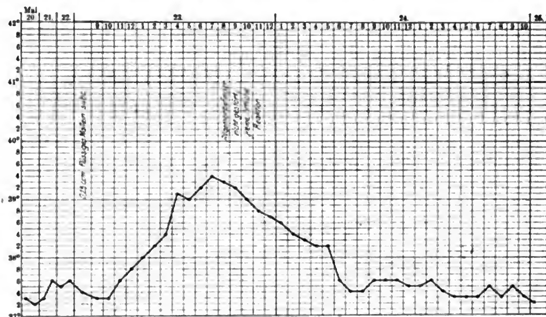
Pferd Nr. 2: mehrere alte verkäste Rotzknoten in der Lunge, ein alter verkäster Rotzknoten in der Milz und mehrere alte verkäste Rotzknoten in der Leber; bei

Pferd Nr. 5: Rotznarben auf der Nasenscheidewand, zwei alte verkäste Rotzknoten in der Milz; bei

Pferd Nr. 6: Rotznarben im oberen Drittel der Luftröhre, mehrere alte verkäste Rotzknoten in der Leber; bei

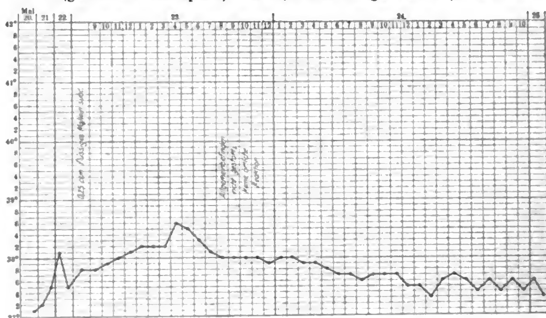
Pferd Nr. 7: Rotznarben auf der Nasenscheidewand, mehrere alte, zum Teil verkäste, zum Teil verkalkte Rotzknoten in der Leber.

Nr. 8 (gesundes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 8).



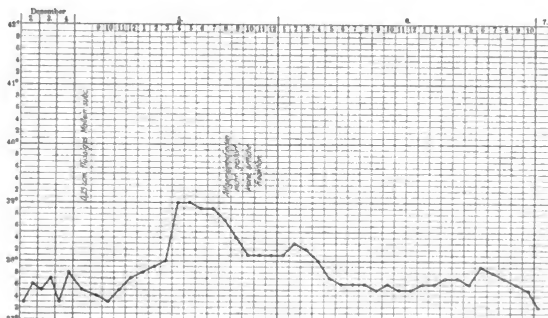
Kurve Nr. 8.

Nr. 9 (gesundes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 9).



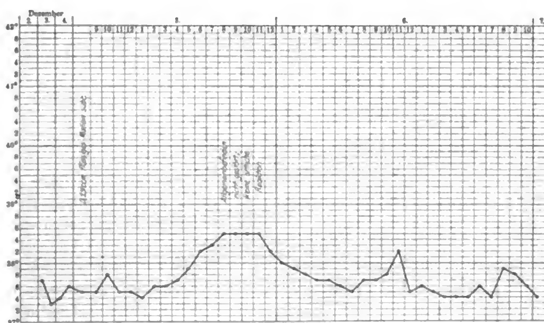
Kurve Nr. 9.

Nr. 10 (gesundes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 10).



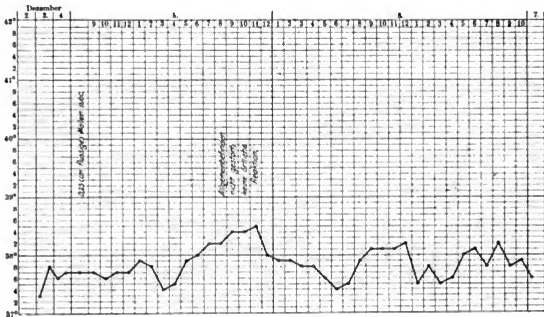
Kurve Nr. 10.

Nr. 11 (gesundes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 11).



Kurve Nr. 11.

Nr. 12 (gesundes Versuchspferd) erhält 0,25 ccm flüssiges Mallein (siehe Kurve Nr. 12).



Kurve Nr. 12.

Die hier aufgeführten Versuche sprechen einwandfrei für die subcutane Methode. — Für gewisse zweifelhafte und schwierig zu beurteilende Fälle und als Ersatz für die Augenprobe bei der kombinierten Rotzdiagnostik (Blutprobe + Augenprobe) sollte nach meinen Erfahrungen die Anwendung der Subcutanprobe zugelassen werden. Voraussetzung für die Anwendung ist, daß sie nicht bei fiebernden Pferden und nicht vor der Blutuntersuchung angewandt wird. — Auch die von Teipel (12) angeführten beiden Fälle von verschiedenem Ausfall der Blutuntersuchung und Augenprobe und ihre Klärung durch die subcutane Malleinprobe unterstützen diese Forderung.

Bei der Besprechung des Verfahrens, das bei der Untersuchung rotzverdächtiger oder rotzansteckungsverdächtiger Pferde auszuführen ist, schreibt Ziffer 7 des Anhangs zu Abschnitt II Nr. 3 (§ 138 Absatz 2) der preußischen Ausführungsanweisungen zum Viehseuchengesetze vom 26. Juli 1909 vor, daß die zu untersuchenden Pferde vor dem Abschluß der Blutuntersuchung nicht mit Mallein behandelt werden dürfen. Diese Vorschrift findet ihre Begründung in der Tatsache, daß gesunde, mit Mallein subcutan vorbehandelte Pferde in ihrem Blute spezifische Antikörper in dem Maße bilden können, daß sie von den bei rotzkranken Pferden vorhandenen Antikörpern nicht zu unterscheiden sind, und daß infolgedessen die diagnostische Sicherheit der Blutuntersuchung durch die subcutane Anwendung des Malleins in Frage gestellt wird (Pfeiler und Scheffler [13]). Bei einem Vergleich der Antikörperbildung bei der subcutanen Einführung des Malleins und der natürlichen Infektion ist allerdings der grundlegende Unterschied anzunehmen, daß die Antikörperbildung anregende Wirkung des Malleins im geraden Verhältnis zu der Menge des mit dem Mallein eingeführten

Malleuseiweißes steht (Marek [14]) und die Antikörperproduktion nach einiger Zeit aufhören muß und die Antikörper wieder verschwinden müssen, weil das eingeführte Malleuseiweiß nicht vermehrungsfähig ist. Bei der natürlichen Infektion dagegen wird sich das Malleuseiweiß im Organismus vermehren und die Antikörperbildung mindestens bis zur endgültigen Abheilung der Rotzprozesse bestehen bleiben. Bei den serologischen Untersuchungen ist indessen dieser Unterschied zwischen natürlicher Infektion und subcutaner Einverleibung von Mallein nur bei über längere Zeit sich erstreckenden Untersuchungen erkennbar. Hinsichtlich der Dauer der gesteigerten Antikörperproduktion nach der subcutanen Einspritzung von Mallein liegen verschiedene Beobachtungen vor (Sustmann [15], Mießner [16], Mießner und Trapp [17], Pfeiler [18], Zurkan [19], Marcis [20], Reinhardt [21], Pfeiler und Scheffler [13], Pfeiler und Weber [22], Kranich [23] u. a.).

Die im Reichsgesundheitsamte in dieser Hinsicht angestellten Versuche ergaben folgendes:

Versuchspferd Nr. 1 erhält am 2. 3. subcutan 0,25 ccm flüssiges Mallein R.G.A.			Versuchspferd Nr. 2 erhält am 2. 3. subcutan 0,25 ccm flüssiges Mallein R.G.A.	
Datum	Agglutination	Komplementbindung	Agglutination	Komplementbindung
2. 3.	—	—	—	—
6. 3.	200	—	—	—
7. 3.	500	—	600	—
8. 3.	800	0,2 ±	1000	verzögerte Lösung
9. 3.	1300	0,2 ±	1000	0,2 ±
10. 3.	2000	0,2 ±	1300	0,2 ±
11. 3.	2000	0,2 ± ± 0,1 ±	2000	0,2 ±
12. 3.	2000	0,1 ±	1300	0,1 ±
16. 3.	1300	0,2 ±	1300	0,2 ±
18. 3.	1000	0,2 ±	1000	0,2 ±
20. 3.	800	0,2 ±	600	verzögerte Lösung
28. 3.	600	verzögerte Lösung	600	—
2. 4.	400	—	400	—
4. 4.	—	—	200	—

Es ergibt sich aus den Versuchen die auch von anderen Seiten schon früher hervorgehobene Notwendigkeit, daß in Pferdebeständen, in denen die Blutuntersuchung zur Rotzbekämpfung durchgeführt wird, die subcutane Anwendung des Malleins vor Abschluß der Blutuntersuchung zu unterbleiben hat. Da die durch die subcutane Malleinbehandlung gebildeten Antikörper aber nach einer gewissen Zeit wieder verschwinden, so liegt kein zwingender Grund vor, die Anwendung der Subcutanmethode für die Rotzdiagnostik gänzlich auszuschließen, ganz besonders nicht bei der kombinierten Rotzdiagnostik (Blutprobe und Augenprobe) und bei der Beurteilung der Blutwerte nach den von der Militärverwaltung während des Krieges für die Blutuntersuchungsstellen erlassenen Vorschriften.

Um eine möglichst restlose Ermittelung aller rotzkranken Pferde herbeizuführen, hat die Militärverwaltung während des Krieges versucht, die allergischen Malleinreaktionen sich für die Unterstützung der Blutuntersuchung bei der Rotzdiagnostik dienstbar zu machen. Da die Malleinisation in Form der Subcutanmethode ausschied, weil ihre Anwendung die Bildung spezifischer Antikörper anregt und deshalb die Blutuntersuchung für 1—2 Monate unmöglich macht, die Hautreaktion (Dermoreaktion, Cutanreaktion und Intracutanreaktion) keine verläßlichen Ergebnisse liefert und zum Teil schwierig zu beurteilen ist, so kam wegen der leichten, einfachen und bequemen Ausführbarkeit und des Vorzuges der Verwertbarkeit bei fiebernden Pferden die konjunctivale Form — die Augenprobe zur Unterstützung der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode in erster Linie in Frage; diese Kombination ist bereits früher von Fröhner (24), Müller, Gaethgens und Aoki (25), Marioth (26), Mießner (27), Bach (28) und Bongert (29) empfohlen und gefordert worden.

Nach den Erfahrungen von v. Pirquet(30), Calmette(31) und Wolff-Eisner(32) über die Wirkung des Tuberkulins auf die Haut und Bindehaut tuberkulöser Menschen und Rinder wurden auch an rotzkranken und gesunden Pferden entsprechende Versuche mit Mallein angestellt.

Bei uns in Deutschland hat ganz besonders Fröhner (33, 34) den Wert der Augenprobe von Anfang an vertreten; durch die von ihm aufgestellte „Anleitung zur Vornahme der Malleinaugenprobe“ (35) ist die Augenprobe mehr und mehr in Aufnahme gekommen, sie hat an der erfolgreichen Rotzbekämpfung wesentlichen Anteil.

Nach dieser Anleitung besteht die Augenprobe darin, daß bei rotzkranken Pferden nach dem Einbringen von Mallein in den Lidsack eines gesunden Auges eine spezifische Bindehautentzündung mit eitrigem Sekret entsteht. Einwandfreie Beobachtungen haben gezeigt, daß die Reaktion oft schon wenige Stunden nach der Einpinselung beginnt und schon nach 4—5 Stunden völlig ausgebildet sein kann. Deshalb ist es von Wichtigkeit, daß die Einpinselung am frühen Morgen erfolgt; zweckmäßig hat die Besichtigung 3—6 Stunden nach dem Einpinseln zu beginnen und ist alle zwei Stunden — etwa bis zur 12. Stunde — zu wiederholen. Die Untersuchung kann in der Regel nach 24 Stunden als abgeschlossen angesehen werden. Die bei manchen Pferden in der ersten Stunde nach dem Einbringen des Malleins auftretenden Erscheinungen von Tränenabsonderung, Lichtscheue, leichter höherer Rötung der Lidbindehaut, die auf den Glyceringehalt des Malleins zurückzuführen sind, schwinden nach kurzer Zeit wieder, sie dürfen nicht als spezifische Reaktion aufgefaßt werden. Nichtspezifisch ist ferner ein serös-schleimiger und schleimiger Ausfluß. Das Vorhandensein von Rotlaufseuche (Influenza, Pferdestaupe) einer beiderseitigen eitrigen Bindehautentzündung und eines beiderseitigen schleimigen Ausflusses in größerer Menge schließt die Vornahme der Augenprobe aus. Das unverdünnte flüssige Mallein wird mit einem Augenpinsel in den Lidsack gebracht, indem man mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand die Augenlider nach außen öffnet, das Mallein mit der rechten Hand vorsichtig in den Lidsack einpinselt und den eingeführten Pinsel zwischen den zusammengepreßten Lidern sanft ausdrückt. Diese Einpinselung erfolgt am besten zweimal. Innige Berührung zwischen Mallein und Schleimhaut ist unbedingtes Erfordernis. Um eine Reibung des Auges durch Scheuern zu verhindern, und um zu verhüten, daß die Pferde den etwa auftretenden Augenausfluß selbst durch Abstreichen entfernen, sind die Pferde nach Möglichkeit nach beiden Seiten und nach der Stallgasse in den nächsten 12—24 Stunden auszubinden, zum mindesten aber hochzubinden. Das Ergebnis der Beurteilung ist entweder positiv (+), oder zweifelhaft (?), oder negativ (—).

Positiv ist die Augenprobe, wenn sich im inneren Augenwinkel eitriges gelbliches oder gelbgrünes (nicht weißes oder graues) Schleimhautsekret angesammelt hat oder abfließt und wenn gleichzeitig eine höhere Rötung und Schwellung der Lidbindehaut eingetreten ist. Die Menge des eitrigen Sekretes ist sehr verschieden. Danach kann man drei Grade der positiven Reaktion unterscheiden:

a) schwach positiv (bohnengroßer Eitertropfen),
b) mittelstark positiv (mehrere Eitertropfen),
c) stark positiv (reichlicher eitriger Ausfluß mit starker Lidschwellung).

Zweifelhaft ist die Augenprobe, wenn im inneren Augenwinkel nur wenig Eiter (erbsengroßer Eitertropfen) aufgetreten ist, oder wenn bei noch geringerer Eitermenge (linsengroße Eiterflocke) gleichzeitig höhere Rötung der Lidbindehaut mit serösem oder serös-schleimigem Augenausfluß in mittlerer Menge aufgetreten ist.

Negativ ist die Augenprobe, wenn im inneren Augenwinkel kein Sekret oder nur ein seröses, serös-schleimiges und schleimiges Sekret ohne jede Eiterbeimengung aufgetreten ist. Insbesondere ist zu beachten, daß weiße, grauweiße oder graue Schleimfäden sowie sago- und froschlaichähnliche Schleimklümpchen weder eine positive noch eine zweifelhafte Reaktion bedeuten (Fröhner).

Sofern die Reaktion zweifelhaft ist, kann sofort nochmals an demselben Auge die Malleinisierung wiederholt werden; die Augenprobe ruft bei gesunden Pferden keine Antikörperbildung hervor, selbst wenn sie mehrmals wiederholt wird. Als eine wertvolle und schätzenswerte Unterstützung der Augenprobe, speziell bei zweifelhaft oder schwach reagierenden Pferden habe ich die besonders von Fröhner und Schnürer empfohlene gleichzeitige Temperaturmessung gefunden; wenn eine Temperatursteigerung auch nicht die Regel bei der Augenprobe bildet, so kann durch eine nachweisbare Temperatursteigerung doch manchmal der diagnostische Wert der Augenprobe erhöht und zur Klärung der Sachlage und Verstärkung des Rotzverdachtes beigetragen werden.

Die Augenprobe hat während des Krieges in Verbindung mit der Blutuntersuchung (Agglutination + Komplementbindung) bei der Rotzbekämpfung vorzügliche Dienste geleistet. Während vor dem Kriege und noch zu Anfang des Krieges häufig Fehlergebnisse zu verzeichnen waren — die mehr oder weniger auf minderwertige Malleine und oft auch auf Unkenntnis in der Ausführung und Beurteilung zurückzuführen waren, da viele Tierärzte im Frieden zu wenig oder gar nicht Gelegenheit hatten, diese Methode kennen zu lernen —, besserten sich die Ergebnisse mit der Einführung des flüssigen Malleins vom Laboratorium der Militär-Veterinär-Akademie, nach Belehrung der Veterinäre in Kursen oder durch Merkblätter.

Auch die Malleinaugenprobe hat ihre Mängel; über Fehlergebnisse, daß rotzkranke Pferde negativ oder gesunde Pferde positiv reagiert haben, ist von vielen Beobachtern berichtet worden. Oft ließen sich die Fehlergebnisse auf fehlerhafte Technik, mangelhafte Beurteilung der Reaktion oder Mangel an Erfahrung zurückführen. Von den Mängeln der Methode muß weiterhin der Umstand erwähnt werden, daß die richtige Beurteilung der Reaktion eine gewisse Erfahrung voraussetzt und daß sie manchmal von der Subjektivität des Beobachters abhängig ist. Der Einfluß der Subjektivität macht sich namentlich in denjenigen Fällen geltend, in denen sich schwer eine scharfe Grenze zwischen den noch zu positiven und zu negativen Reaktionen gehörenden Erscheinungen ziehen läßt; hierdurch kann die Beurteilung manchmal er-

schwert werden. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle ist aber der Ausschlag sowohl im positiven wie im negativen Sinne deutlich und kann leicht erkannt und richtig beurteilt werden. Zu den Nachteilen der Augenprobe kommt vor allem auch noch der Umstand, daß sie bei exakter und einwandfreier Ausführung einen großen Aufwand von Zeit und Kraft an die Tierärzte stellt. Anderseits verdient hervorgehoben zu werden, daß erfahrene und zuverlässige Beobachter während des Krieges mit einem guten Mallein Hervorragendes geleistet haben, und daß bei sachgemäßer Ausführung und Beurteilung sich die Augenprobe als eine vorzügliche Methode erwiesen hat, die zur Beurteilung zweifelhafter Fälle für die Blutuntersuchung von allergrößtem Werte geworden ist.

Die Frage, ob bei ungleichen Ausfällen zwischen den serologischen Methoden einerseits und der Augenprobe anderseits das Ergebnis der Blutuntersuchung (Agglutination + Komplementbindung) höher zu bewerten ist als das der Augenprobe, ist noch unentschieden geblieben: es kommt nämlich gar nicht so selten vor, daß bei der Einsendung von Blutproben beispielsweise wiederholt positive Augenproben mitgeteilt werden, daß aber die wiederholt ausgeführte serologische Untersuchung negativ ausfällt. In einzelnen Fällen kann hier die Nichtspezifität der Augenprobe durch Anwendung eines sog. nicht spezifischen Malleins auf ($^1/_{10}$ eingedickte Glycerinbouillon) nachgewiesen werden (Marxer[1]). Der Fall, daß bei positivem Ausfall der Blutuntersuchung das Ergebnis der Augenprobe als negativ mitgeteilt wird, ist wesentlich seltener. Im allgemeinen hat man bei diesen ungleichen Ausfällen der Reaktionen dem Ergebnis der Blutuntersuchung den entscheidenden Einfluß eingeräumt und ist bei diesem Verfahren gut gefahren. Eine endgültige Klärung dieser Frage an der Hand von Zerlegungen ist sehr erwünscht: ferner wäre in Betracht zu ziehen, für solche Fälle die subcutane Malleinprobe in Anwendung zu bringen.

II. Serologische Untersuchungsmethoden.

1. Agglutination.

In Anlehnung an die im Jahre 1896 erfolgte Entdeckung der Agglutination durch Gruber und Durham (36) und an die günstigen Ergebnisse der Agglutinationsprobe beim Typhus des Menschen wurden dann auch alsbald in der Veterinär-Medizin Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Agglutinationsprobe für die Diagnose der Rotzkrankheit beim Pferde und Menschen angestellt.

Den methodischen Untersuchungen von Schütz und Mießner (37) war es vorbehalten, sichere Anhaltspunkte für die Bewertung der Agglutinationsergebnisse zu gewinnen. Die beiden Forscher konnten im Jahre 1905 an der Hand eines großen Materials zeigen, daß Pferde mit einem Agglutinationswert von 1 : 400 und darunter mit wenigen Ausnahmen sicher rotzfrei und solche mit einem Agglutinationswerte von über 1 : 1000 sicher rotzkrank sind, und daß Werte von 1 : 2000 und höher auf eine frische Rotzinfektion hinweisen. Sie empfahlen deshalb, alle der Ansteckung durch Rotz verdächtigen Pferde, deren Blut in einer Verdünnung von 1 : 1000 und darüber agglutiniert, zu töten. Sie stellten fest, daß der Agglutinationswert 5—7 Tage nach der Infektion zu steigen beginnt, am 10.—11. Tage einen Höhepunkt von 1 : 2000 und darüber erreicht, auf dieser Höhe sich dann ungefähr 4 Wochen hält und dann allmählich auf 1 : 500 zurückgeht.

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. und exper. Therap. Origin. 1919, Bd. 28.

Das Erkennen solcher rotzkranken Pferde, deren Agglutinationswert bereits wieder zu dem Werte herabgesunken ist, der auch bei gesunden Tieren vorkommt, war nach diesen Angaben recht schwierig. Da bei den Untersuchungen aber auch festgestellt wurde, daß rotzkranke Pferde im Verlaufe einer längeren Beobachtungszeit beträchtliche Schwankungen im Agglutiningehalt ihres Serums zeigen, während der Agglutinationswert gesunder Pferde in der Regel konstant ist, so bezeichneten sie nur diejenigen Pferde mit einem Agglutiningehalt von 500—800 als rotzkrank, deren Werte sich innerhalb eines Zeitraumes von drei Wochen änderten; war bei der nach dieser Zeit erfolgten zweiten Untersuchung der Agglutinationswert der gleiche geblieben wie bei der ersten Untersuchung, so wurden die Pferde als rotzfrei angesehen. Auf Grund dieser Untersuchungen von Schütz und Mießner wurde für Preußen durch eine Verfügung des Landwirtschaftsministers vom 21. 2. 1906 zur rascheren Tilgung der Rotzkrankheit bestimmt, daß bei allen ansteckungsverdächtigen Pferden die Agglutinationsprobe vorzunehmen sei.

Ursprünglich wurden nur lebende Rotzbacillen zur Agglutinationsprüfung verwandt, später wurden von Kleine (38) auf Anregung von Koch abgetötete und mit Karbolkochsalzlösung abgeschwemmte Agarkulturen, die sog. „Testflüssigkeit“ in Anwendung gebracht.

Die durch zweistündiges Erhitzen auf 60° abgetöteten Rotzbacillen wurden mit sterilisierter Karbolkochsalzlösung (0,5% Karbolsäure — 0,85% Kochsalz) abgeschwemmt und durch Papierfilter filtriert, dann wurde dem Filtrat zur Herstellung der richtigen Dichte soviel Kochsalzlösung zugesetzt, bis es im durchscheinenden Lichte ein schwach milchiges Aussehen hatte. Nicht alle Rotzstämme erwiesen sich zur Herstellung der Testflüssigkeit als geeignet, man verwendet deshalb hierzu nur die leicht agglutinierbaren. Da das Agglutinationsphänomen nur langsam vor sich geht (24—36 Stunden), so führten Müller (39), Pfeiler (40) und Mießner (16) in Anlehnung an die Schnellagglutination beim Typhus eine Beschleunigung der Agglutinationsprobe durch 10 Minuten langes Zentrifugieren bei 1600 Umdrehungen in der Minute herbei. Dieses Verfahren hat sich gut bewährt.

Bei der praktischen Ausführung der Methode haben sich später erhebliche Schwierigkeiten herausgestellt, vor allem machte sich der Umstand unangenehm geltend, daß zur Ermittelung der chronisch rotzkranken Pferde, deren Agglutinationswerte bereits zur normalen Höhe herabgesunken waren, das Verfahren und die Dauer der Beobachtung sehr in die Länge gezogen wurde. Dazu kam, daß bei den späteren Untersuchungen sich ein erheblicher Prozentsatz mit einem gleichbleibenden Werte von 500—1000 als rotzkrank erwies, daß ferner Agglutinationswerte unter 400 durchaus kein sicheres Zeichen für Freisein von Rotz waren und auch gesunde Pferde häufig nicht unbedeutende Schwankungen ihres Agglutinationswertes zeigten. Auch die Agglutinationswerte über 1000 erwiesen sich in einzelnen Fällen nicht als pathognostisch, denn es zeigte sich, daß auch andere Krankheiten (Druse, Katarrhe der Luftwege, Rotlaufseuche, Tuberkulose u. a.) bisweilen sehr hohe Agglutinationswerte auszulösen imstande waren. Während des Krieges ist wiederholt einwandfrei beobachtet worden, daß rekonvaleszente und anscheinend gesunde Pferde in Rotlaufseuchebeständen Agglutinationswerte von über 4000 zeigten. Diese Werte zeigten aber auch nicht selten völlig gesunde Pferde; ich habe beispielsweise ein gesundes Pferd (Stute) beobachten und öfters untersuchen können, das über 1 Jahr lang einen durchschnittlichen Agglutinationswert von 1 : 8000 zeigte; Komplementbindung, Konglutination, Hämagglutination, Augenprobe, cutane Probe waren sämtlich bei den in 2—4 wöchentlichen Abständen ausgeführten Untersuchungen stets negativ. Bezüglich der Beurteilung des Agglutinationsergebnisses hat sich im Kriege gezeigt, daß alle Röhrchen aufzuschütteln sind; als positive Reaktionen können nämlich nur die Fälle angesehen werden, in

denen beim Schütteln der Röhrchen Klümpchen und Bröckchen der zusammengeballten Bacillen in klarer oder höchstens ganz schwach getrübter Flüssigkeit schwimmen.

Die von Schütz und Mießner eingeführte und von Müller, von Pfeiler und von Mießner vervollkommnete Technik der Agglutinationsmethode wird heute noch geübt. Die Erfahrungen des Krieges bezüglich des Wertes der Methode gehen dahin, daß sie ein schätzbares Hilfsmittel zur frühzeitigen Erkennung der Rotzkrankheit ist. Im Verlaufe des Krieges sind häufig Pferde zunächst auf Grund eines höheren Agglutinationswertes als rotzverdächtig abgesondert worden, bei denen sich bei späteren Untersuchungen Komplementbindung zeigte und Rotz festgestellt wurde. Durch die frühzeitige Absonderung der Pferde konnten weitere Infektionen verhütet und die Seuchengänge merklich abgekürzt werden. Was die Leistungsfähigkeit der Agglutinationsmethode hinsichtlich der Zahl der zu ermittelnden Rotzfälle im Vergleich zu den übrigen serodiagnostischen Methoden anlangt, so tritt sie weit hinter diese Methoden zurück; sie kommt daher hauptsächlich nur als Hilfsreaktion und zwar für frische Infektionen und akute Stadien während des chronischen Verlaufes der Rotzkrankheit in Betracht.

2. Präcipitation.

Die ersten Versuche, die Präcipitation für die Rotzdiagnostik zu verwerten, wurden von dem russischen Forscher Dedjulin (41) angestellt und stammen aus dem Jahre 1899 bezw. 1900. Er benutzte als Antigen ein Filtrat aus Rotzbacillenkulturen und Mallein. Nach Wladimiroff (42), Shirnoff (43) und Bonome (44) machte Schnürer (45) den Versuch, die Präcipitation für die Diagnose der Rotzkrankheit zu verwenden; er benutzte für seine Versuche flüssiges Mallein; alle diese Untersuchungen führten zu keinem praktisch verwertbaren Resultat. Im Jahre 1908 besprach Müller (39) anläßlich seiner von ihm angestellten Versuche über die Beschleunigung der Agglutination der Rotzbacillen durch Zentrifugieren auch die Anwendungsmöglichkeit der Präcipitation für die Rotzdiagnose. Auf Grund seiner Untersuchungen empfiehlt er die Präcipitation als ein schnelles und sicheres Mittel für die Rotzdiagnose.

Gleichzeitig und unabhängig voneinander wurden im Jahre 1909 von Pfeiler (46) und von Mießner (47) Arbeiten über die Präcipitation bei der Rotzkrankheit ausgeführt; es wurde von ihnen statt der ursprünglichen Mischungsmethode das Ascolische Schichtungsverfahren angewandt. Das Schichtungsverfahren wird jetzt allgemein benutzt. Nach den ausgedehnten Versuchen von Pfeiler an Fällen aus der Praxis sind die Präcipitine schon am 4.—5. Tage — also noch früher als die Agglutinine und die komplementbindenden Substanzen — nach der Infektion erkennbar. Er benutzte als Antigen zunächst einen nach den Angaben von Pick hergestellten Karbolkochsalzextrakt aus Rotzbacillen, der nicht befriedigte; er suchte dann die störende Einwirkung der Normalpräcipitine dadurch zu beseitigen, daß er das Antigen statt mit Kochsalzlösung mit karbolisiertem Pferdeserum verdünnte; aber auch mit dieser Abänderung treten nichtspezifische Trübungen und Ausflockungen auf. Deshalb schlug Pfeiler vor, die Schichtprobe in Uhlenhuthröhrchen vorzunehmen oder die Hansersche Kapillarmethode anzuwenden. — Mießner benutzte als Antigen teils eine Bakterienaufschwemmung von abgetöteten Rotzbacillen (100 ccm einer 9%igen Kochsalzlösung), teils Schüttelextrakte aus Rotzbacillen, teils das Malleinum siccum Foth. Gute Ergebnisse erhielt er mit dem Mallein und den Schüttelextrakten, weshalb er das Mallein besonders als Antigen empfiehlt. Zum Versuch löst er dasselbe in Kochsalzlösung, schichtet es über das unverdünnte Serum und stellt die geschichteten Proben zwei Stunden in den Brutschrank.

Die Präcipitationsmethode ist im Verlauf des Krieges an vielen Stellen und in vielen Fällen zur Unterstützung der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode

und zum Vergleich herangezogen worden. Als Antigen wurde meistens der vollkommen klare Rotzbacillenextrakt wie bei der Komplementbindungsmethode benutzt. Bei chronisch rotzkranken Pferden ließ die Methode häufig im Stich, auch beobachtete man vereinzelt bei gesunden Pferden eine positive Reaktion. Am schärfsten tritt die Reaktion ein bei akutem Rotz, bei chronischem Rotz pflegt sie weniger scharf zu sein und in manchen Fällen ganz zu fehlen. Pferde, die lediglich hohe Agglutinationswerte (2000—8000) ohne Komplementbindung bei stets negativer Augenprobe zeigen (Rotlaufbestände), pflegen eine positive Präcipitinreaktion vorzutäuschen; die Ringbildung tritt bei ihnen rasch und deutlich ein, pflegt aber bereits nach 4—6 Stunden wieder zu verschwinden, im Gegensatz zu rotzkranken Pferden, bei denen sich die Ringbildung um diese Zeit eher noch verstärkt.

Die kombinierte Agglutinations- und Komplementablenkungsmethode arbeitet wesentlich sicherer als die Präcipitationsmethode; deshalb ist die Präcipitation auch als selbständige, d. h. von der Agglutination und Komplementablenkung unabhängige Methode für die praktische Rotzdiagnose nicht in Frage gekommen, und es trifft auch heute noch — wie Pfeiler (48) richtig bemerkt — der Standpunkt Wladimiroffs zu, wonach die Präcipitationsmethode beim Rotz weder in technischer Beziehung, noch was ihre Beurteilung anbetrifft, bereits als eine durchgearbeitete diagnostische Methode bezeichnet werden kann.

3. Komplementablenkung.

Nachdem Bordet und Gengou (49) im Jahre 1901 die Grundlage für die Komplementablenkungsmethode und zwar zum Nachweise von Antikörpern in Immunseren gelegt, dann von Neißer und Sachs (50, 51, 52) die Methode zum Nachweise von Antigenen herangezogen war, stellten Wassermann, Neißer und Bruck (53) das Anwendungsgebiet der Methode durch erfolgreiche Benutzung von Bakterienextrakten und Organextrakten auf eine erweiterte Basis und verwerteten sie praktisch besonders für die Diagnose der Lues.

Im Jahre 1909 legten Schütz und Schubert (54) eine für die Diagnose der Rotzkrankheit ausgearbeitete Methode mit den technischen Einzelheiten eingehend dar. Sie zeigten in dieser Arbeit, aus der hervorgeht, daß die Methode schon seit 1907 im pathologischen Institut der tierärztlichen Hochschule verwendet worden ist, daß die Anlehnung an die Wassermannsche Reaktion unter Verwendung einer stets gleichbleibenden Komplementmenge für die Rotzdiagnose unbrauchbar ist, da durch das Vorhandensein überschüssigen Komplements das Serum von rotzkranken Pferden durch Ausbleiben der Hemmung als rotzfrei reagieren kann. Es ist als ein Verdienst von Schütz und Schubert zu bezeichnen, die Bedeutung der Komplementauswertung für die Brauchbarkeit der Methode erkannt und erwiesen zu haben. In der Arbeit wird gezeigt, daß die komplementablenkenden Stoffe sich in der Regel 7—12 Tage nach der Infektion im Serum nachweisen lassen — also in der Regel später als die Agglutinine — und lange Zeit und viel länger als die Agglutinine im Serum erhalten bleiben. Deshalb erschien die Methode bei chronisch rotzkranken Pferden noch zu einer Zeit anwendbar, zu der die Agglutinationsmethode bereits versagte oder doch zuweilen große Schwierigkeiten machte. Die Verfasser machen in der Veröffentlichung der Methode auch bereits Angaben über die Grenzen ihrer Leistungsfähigkeit und erwähnen, daß in seltenen Fällen und zwar bei Pferden mit sehr altem chronischen Rotz die Erkennung durch die Komplementablenkungsmethode unmöglich werden kann. — Die Komplementablenkungsmethode nach Schütz und Schubert hat sich in kurzer Zeit schon vor dem Kriege als die beste serodiagnostische Methode für die Rotzdiagnostik erwiesen, sie zeigte uns unter den gewöhnlichen Verhältnissen fast jeden Fall der Rotzkrankheit an. Der Vorteil besteht darin, daß das Ergebnis deutlich erkennbar ist und zahlenmäßig aus-

zudrückende Werte gewonnen werden. Auf Grund der wissenschaftlich erwiesenen Tatsache, daß die Agglutination in manchen Fällen Aufschluß gibt über die ungefähre Zeit, die seit der Infektion verstrichen ist, daß die Agglutination in der Regel die rotzkranken Pferde früher als solche erkennen läßt als die Komplementablenkungsmethode und daß die Anwendung der letzteren bei einer geringen Anzahl von Pferden sowie bei Eseln, Maultieren und Mauleseln auf Schwierigkeiten stößt, ist bei der praktischen Seuchentilgung von Schütz das kombinierte Verfahren = Komplementablenkungs + Agglutinationsmethode zur Diagnosestellung vorgeschlagen und in Preußen durch Verfügung des Landwirtschaftsministeriums vom 10. Dezember 1908[1]) vorgeschrieben worden.

Auch für die Bluntuntersuchungsstellen, die die Militärverwaltung bald nach Ausbruch des Krieges zur Bekämpfung der Rotzkrankheit aufgestellt hat, waren als serodiagnostische Mittel die Agglutinations- und Komplementablenkungsmethode vorgeschrieben. Diese beiden Methoden — vereint — haben sich bei sorgfältiger Ausführung zur Feststellung der Diagnose ausgezeichnet bewährt; sie ergänzen sich auch außerordentlich glücklich insofern, als die Agglutinationsmethode einerseits ein Urteil über frisch ausgebrochenen Rotz und über das Auftreten neuer akuter Stadien während des chronischen Verlaufes gestattete, und die Komplementablenkungsmethode anderseits bei dem Herausfinden chronisch rotzkranker Pferde sehr gute Dienste leistete.

Für die Beurteilung der Blutuntersuchungsergebnisse galten vor dem Kriege in Preußen für die Veterinärpolizei folgende Bestimmungen:

1. Pferde, deren Serum in der Menge von 0,1 ccm eine vollständige Bindung des Komplements hervorruft, sind ohne Rücksicht auf die Höhe des Agglutinationswertes als rotzkrank anzusehen und zu töten.

2. Pferde, deren Serum in der Menge von 0,1 ccm nur eine unvollständige oder erst in der Menge von 0,2 ccm eine vollständige oder unvollständige Bindung des Komplements hervorruft, sind zu töten, ohne Rücksicht auf die Höhe des Agglutinationswertes.

3. Pferde, deren Serum in der Menge von 0,2 ccm keine Bindung des Komplements hervorruft, sind zu töten, wenn der Agglutinationswert mehr als 1000 beträgt.

4. In jedem Pferdebestande, in dem durch die erste Untersuchung des Blutes rotzkranke Pferde ermittelt worden sind, ist eine zweite Blutentnahme am Tage der Tötung der rotzkranken Pferde bei allen Pferden des Bestandes vorzunehmen.

a) Werden durch die zweite Untersuchung des Blutes oder auf andere Weise, z. B. durch klinische Untersuchung, wiederum rotzkranke Pferde ermittelt, so ist eine nochmalige Blutentnahme am Tage der Tötung der rotzkranken Pferde bei allen Pferden des Restbestandes vorzunehmen. Dasselbe muß solange geschehen, als bei weiteren Untersuchungen rotzkranke Pferde nachgewiesen werden. Werden keine rotzkranken Pferde mehr ermittelt, so kommen die Maßnahmen unter b) in Anwendung.

b) Wird durch die zweite Untersuchung des Blutes kein rotzkrankes Pferd ermittelt, so ist eine dritte Blutentnahme 14 Tage nach der zweiten auszuführen. Führt die dritte Untersuchung des Blutes zu demselben Ergebnisse wie die zweite, so sind die Pferde des Restbestandes als unverdächtig anzusehen (siehe Ziffer 6). Werden durch die dritte Untersuchung noch rotzkranke Pferde ermittelt, so kommen die Maßnahmen unter a) in Anwendung.

5. Pferde, deren Serum in der Menge von 0,2 ccm keine Bindung des Komplements hervorruft und einen Agglutinationswert von 1000 oder weniger hat, sind als unverdächtig anzusehen, wenn die Blutuntersuchung mindestens 14 Tage nach Aufhebung der Ansteckungsgefahr stattgefunden hat, oder ist der Zeitpunkt des Aufhörens der Ansteckungsgefahr nicht sicher zu ermitteln, so ist eine zweite Blutentnahme 14 Tage nach der ersten vorzunehmen. Liefert die zweite Blutuntersuchung dieselben Ergebnisse wie die erste, so sind die Pferde als unverdächtig anzusehen.

6. Die Blutuntersuchung eines Pferdebestandes ist als abgeschlossen zu erachten, sobald sämtliche Pferde als unverdächtig (siehe Ziffer 5) anzusehen sind.

Auf Grund der im Kriege an einem großen Material gesammelten Erfahrungen und aus der Erkenntnis der nicht strengen Spezifität der Komplementablenkungs- und

[1]) Veröff. des Reichsgesundheitsamts 1909, S. 247.

Agglutinationsmethode erfuhren diese Bestimmungen für das Heer alsbald eine Abänderung; die Beurteilung der Blutwerte wurde eine viel vorsichtigere, und es wurden für die Blutuntersuchungsstellen folgende Vorschriften herausgegeben:

Als rotzkrank sind zu bezeichnen:

A. bei der ersten Untersuchung Pferde, deren Serum

1. vollständige Komplementbindung bis 0,02 oder 0,05 zeigt mit Agglutinationswerten von 1300 und darüber;

2. vollständige Komplementbindung bis 0,02 zeigt mit Agglutinationswerten bis mindestens 1000 oder, falls Agglutination fehlt, mit einwandfrei positivem Ergebnisse der Augenprobe. Die Augenprobe muß, nach positivem Ausfalle sofort wiederholt, dasselbe Resultat ergeben haben;

3. deutliche, unvollständige Komplementbindung (stärkere bis mittelgradige Trübung) bis 0,02 oder 0,05 zeigt mit Agglutinationswerten bis 2000 und darüber in Beständen, in denen bereits Rotzfälle ermittelt sind.

B. Nach mindestens zweimaliger Untersuchung, die in Abständen von 8—14 Tagen ausgeführt ist, Pferde, deren Serum wiederholt

1. vollständige Komplementbindung bis 0,02 zeigt mit Agglutinationswerten unter 1000, selbst bei negativem Ergebnisse der Augenprobe;

2. vollständige Komplementbindung bis mindestens 0,1 und gleichzeitig unvollständige Komplementbindung (stärkere oder mittelgradige Trübung) bis 0,02 oder mindestens 0,05 zeigt mit Agglutinationswerten von 1300 und darüber;

3. unvollständige Komplementbindung bis 0,05 oder mindestens 0,01 zeigt mit Agglutinationswerten von 800—1000 und gleichzeitig einwandfrei positiver Augenprobe. (Die Augenprobe muß, in Abständen von 8—14 Tagen mehrmals wiederholt, stets positiv ausgefallen sein.)

4. Agglutinationswerte bis 2000 und darüber zeigt bei einwandfrei positiver Augenprobe in Beständen, in welchen akuter Rotz herrscht und Rotlaufseuche auszuschließen ist.

In den übrigen Fällen sind die Pferde, deren Serum vollständige oder unvollständige Komplementbindung oder Agglutinationswerte über 800 zeigt, zunächst als rotzverdächtig zu bezeichnen.

Die vorstehenden, für das Heer erlassenen Vorschriften haben sich bei den vielen Tausenden von Untersuchungen durchaus bewährt. Die Erfahrungen haben in einzelnen Teilen auch zu einer Abweichung der Schütz-Schubertschen Originalvorschrift bei der Komplementablenkungsmethode, zu einem weiteren Ausbau und damit zu einer größeren Leistungsfähigkeit der Methode geführt. Abweichend von der Originalvorschrift wurde die Wertigkeit des Komplements nicht nur lediglich gegenüber dem hämolytischen System (Meerschweinchenkomplement, hämolytischer Amboceptor des Kaninchens und rote Blutkörperchen des Schafes), sondern auch in einer zweiten Reihe mit dem ausgewerteten Extrakt, in einer dritten und vierten Reihe mit einem Normalpferdeserum und einem Rotzserum mittleren Reaktionsgrades vergleichend festgestellt. Es wurde nämlich die Erfahrung gemacht, daß bei alleiniger Auswertung des Komplements im einfachen hämolytischen System sich später beim Hauptversuch sehr oft unangenehme Störungen zeigten, die in unvollständiger Hämolyse in Erscheinung treten. Dieser störende Einfluß bei dem Hauptversuch lag in einem Komplementmangel begründet, da die Komplementdosis im einfachen hämolytischen System meistens zu knapp bestimmt wird, um später in Verbindung mit Serum und Extrakt noch die Hämolyse vollständig bewirken zu können.

Außerdem kam es vor, daß mit einem Komplement, das nur im hämolytischen System ausgewertet war, hin und wieder bei Abstufungen von Seren gesunder Pferde mit fallenden Serummengen eine steigende Hemmung in Erscheinung trat, so daß unter Umständen rotzfreie Tiere als serologisch rotzverdächtig bezeichnet werden konnten (kleine Serummengen brauchen nämlich zur Erreichung einer vollständigen Hämolyse häufig mehr Komplement als größere Serummengen). Diese falsche Schlußfolgerung und die unangenehmen Störungen im Hauptversuch wurden durch die Einstellung des Komplements nach der vorbezeichneten und in der folgenden Tabelle ersichtlichen Weise vermieden.

Tabelle für die Auswertung des Komplements.

I	1.	Komplement	0,2	— 0,25	— 0,3	— 0,35	— 0,4	— 0,45	Im Wasserbade 15 Min. lösen lassen bei 38°	
	2.	NaCl	0,3	— 0,25	— 0,2	— 0,15	— 0,1	— 0,05		
	3.	NaCl	2,5	— 2.5	— 2,5	— 2,5	— 2,5	— 2,5		
	4.	Amboceptor	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	5.	Blutkörperchen	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
II	1.	Komplement	0,2	— 0,25	— 0,3	— 0,35	— 0,4	— 0,45	Im Wasserbade 20 Min. binden lassen bei 38°	Im Wasserbade 15 Min. lösen lassen bei 38°
	2.	NaCl	0,3	— 0,25	— 0,2	— 0,15	— 0,1	— 0,05		
	3.	NaCl	1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5		
	4.	**Extrakt**	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	5.	Amboceptor	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	6.	Blutkörperchen	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
III	1.	**Normalserum**	0,05	— 0,05	— 0,05	— 0,05	— 0,05	— 0,05	Im Wasserbade 20 Min. binden lassen bei 38°	Im Wasserbade 15 Min. lösen lassen bei 38°
	2.	NaCl	1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5		
	3.	NaCl	0,3	— 0,25	— 0,2	— 0,15	— 0,1	— 0,05		
	4.	Komplement	0,2	— 0,25	— 0,3	— 0,35	— 0,4	— 0,45		
	5.	Extrakt	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	6.	Amboceptor	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	7.	Blutkörperchen	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
IV	1.	**Rotzserum**[1])	0,2	— 0,2	— 0,2	— 0,2	— 0,2	— 0,2	Im Wasserbade 20 Min. binden lassen bei 38°	Im Wasserbade 15 Min. lösen lassen bei 38°
	2.	NaCl	1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5	— 1,5		
	3.	NaCl	0,3	— 0,25	— 0,2	— 0,15	— 0,1	— 0,05		
	4.	Komplement	0,2	— 0,25	— 0,3	— 0,35	— 0,4	— 0,45		
	5.	Extrakt	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	6.	Amboceptor	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		
	7.	Blutkörperchen	1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0	— 1,0		

Bemerkungen:

In Reihe I ist die Wirkung des Komplements im einfachen hämolytischen System ersichtlich.

In Reihe II kann man die Einwirkung des Extraktes beurteilen.

In Reihe III kann man die Wirkung des Normalserums beurteilen.

In Reihe IV ist die Grenze feststellbar, bei der noch eine vollständige Hemmung durch Rotzserum eintritt.

Aus Reihe I—IV ist die geringst lösende Komplementmenge für den Hauptversuch durch Vergleich zu bestimmen.

In allen Reihen ist das Komplement verdünnt 1:10 (0,85 % NaCl-Lösung) = Grundverdünnung.

Das Ablesen der Bindungswerte im Hauptversuch erfolgte nach einem Verweilen von 15—20 Minuten im Wasserbade von 38—40°, länger als 20 Minuten nach dem Auffüllen des Systems durften die Röhrchen nicht im Wasserbade verbleiben. Auf

[1]) In Reihe IV ist bei dem Rotzserum die geringste vollständig hemmende Serummenge anzusetzen (also überall 0,2 oder 0,1, oder 0,05 bezw. 0,02).

diese Weise wurden auch die kleinen Bindungswerte und Seren mit verzögerter Lösung herausgefunden, die verloren gehen, wenn die Röhrchen mehrere Stunden im Thermostaten verweilen, wo es häufig noch zu einer Nachlösung der roten Blutkörperchen kommt. Alle Röhrchen mit Hemmungen und verzögerter Lösung wurden abgestuft (0,2, 0,1, 0,05, 0,02 ccm Serum) und mit einem neuen frisch ausgewerteten Komplement nachgeprüft. — Bezüglich der Beziehungen zwischen den erhaltenen Blutwerten und den Ergebnissen der Zerlegung wurden die früher gemachten Angaben von Mießner (55) u. a. bestätigt, nach denen die Höhe des Agglutinationswertes bezw. die Stärke des Bindungswertes des Serums rotzkranker Pferde wohl in einem gewissen Verhältnis zum Alter der rotzigen Prozesse stehen, nicht aber zu deren Ausdehnung. — Der Rotzbacillenextrakt wurde aus 48 Stunden alten Glycerinagarkulturen gewonnen, die durch 2 stündiges Erwärmen auf 60° abgetötet und mit Karbolkochsalzlösung abgeschwemmt waren; die abgeschwemmten Kulturen werden alsdann durch 4 tägiges Ausschütteln im Schüttelapparat bezw. durch $^1/_2$ stündiges Kochen und nachheriges Zentrifugieren bis zur völligen Klarheit weiterbehandelt. Die überstehende Flüssigkeit, d. i. der Extrakt, wird darauf abpipettiert und ausgewertet. Ein Unterschied zwischen Koch- und Schüttelextrakt wurde nicht beobachtet.

Bei der Herstellung des schafblutlösenden Kaninchenserums (Amboceptor) hat sich folgendes Verfahren als sehr praktisch und empfehlenswert erwiesen: es erfolgen drei Einspritzungen (intravenös in die Ohrvene)

1. Injektion: 3 ccm gewaschene Schafblutkörperchen,
2. Injektion: 2 ccm gewaschene Schafblutkörperchen, drei Tage nach der ersten Einspritzung,
3. Injektion: 1 ccm gewaschene Schafblutkörperchen drei Tage nach der zweiten Einspritzung.

Sechs Tage nach der dritten Einspritzung Probepunktion aus der Ohrvene und Prüfung der Wertigkeit.

In den meisten Fällen wurde nach dieser Behandlung ein guter hochwertiger Amboceptor gewonnen, ohne daß die Kaninchen in ihrer Mehrzahl anaphylaktische Erscheinungen zeigten. War der Amboceptor nicht hochwertig genug, so wurde das Kaninchen nochmals subcutan bezw. intraperitoneal (1 bezw. 5 ccm) gespritzt. Für den Komplementablenkungsversuch wurde der Amboceptor in $2^1/_2$—3 facher Menge seiner Wertigkeit verwendet, zeigte er z. B. eine Wertigkeit von 1 : 3200, so kam er in einer Verdünnung von 1 : 1000 bis 1300 zur Anwendung.

4. Konglutination.

Die Konglutinationserscheinungen wurden auf Grund der Versuche von Ehrlich und Sachs (56), von Bordet (57, 58) und seinen Schülern zuerst erkannt. Inaktiviertes Rinderserum + Komplement (frisches Pferdeserum) konglutiniert Schafblutkörperchen. Wird die erforderliche Komplementmenge mit einem Antikörper-Antigen Gemisch zusammengebracht, so wird das Komplement bekanntlich unwirksam; fügt man nun das konglutinierende System hinzu (inaktiviertes Rinderserum + Schafblutkörperchen), so tritt eine Konglutination nicht mehr ein. Mit dem konglutinierenden System und Rotzbacillenextrakt lassen sich also Rotzantikörper nachweisen.

Pfeiler und Weber (59, 60, 61, 62) haben das Verdienst, zuerst die Konglutinationsmethode für die Diagnose der Rotzkrankheit in Anwendung gebracht zu

haben. Im Jahre 1912 haben sie zum ersten Male Untersuchungsergebnisse über Seren von 8 Pferden, bald darauf Ergebnisse von 100 Serumproben und später von 3000 Proben mitgeteilt und sehr günstige, zum Teil der Komplementablenkungsmethode überlegene Resultate erzielt. Die beiden Autoren sind der Ansicht, daß die Methode besonders zur Feststellung von chronischem Rotz geeignet sei, geben aber auch zu, daß das Verfahren in der von ihnen angegebenen Anordnung versagen kann und rotzkranke Pferde nicht mit der Regelmäßigkeit wie die Komplementablenkungsmethode anzeigt. In Fällen, in denen nichtspezifische Ablenkungen ermittelt werden, also besonders im Serum von Eseln, Maultieren und Mauleseln und gelegentlich auch im Pferdeblut ist nach ihren Angaben die Methode berufen, eine Entscheidung über das Vorliegen oder Fehlen einer Rotzinfektion abzugeben. — Die von den beiden Autoren angegebene Technik hatte den Mangel, daß eine normierte Komplementmenge und eine bestimmte Amboceptorverdünnung als Arbeitsdosen vorgeschrieben wurde. Die Technik hat durch die Angaben von Müller (63) und Pohle (64) eine schätzenswerte Verbesserung erfahren; die Methode hat dadurch eine erhöhte Leistungsfähigkeit gewonnen.

Die Reaktion beginnt mit der Auswertung der Reagentien. Die Verwendung der in der Literatur angegebenen normierten Amboceptorverdünnung von 0,03 ccm hat sich nicht bewährt. Es ist bei der umfangreichen Anwendung der Konglutinationsmethode häufig beobachtet worden, daß besonders bei Verwendung frisch gewonnenen Rinderserums auch sicher rotzige Pferdeseren im Hauptversuch negative Ergebnisse zeigten. Versuche von Müller und Pohle zeigten, daß diese vorgetäuschte Konglutination nicht auf die Wirksamkeit des konglutinierenden Rinderserums, sondern auf die Gegenwart von Hämagglutininen sowohl im inaktivierten Rinderserum, als auch im Komplement und im inaktivierten Pferdeserum zurückzuführen ist. Aus ihren Versuchen ging hervor, daß keines der drei Medien allein imstande war, in der Gebrauchsdosis eine deutliche Agglutination der Schafblutkörperchen hervorzurufen, daß aber nach Mischen der drei Sera auch nach Inaktivierung des Komplements durch Summation der in ihnen vorhandenen Hämagglutinine eine vollständige Hämagglutination eintrat. Diese Störung wird um so sicherer vermieden, je größer der Unterschied zwischen dem konglutinierenden und hämagglutinierenden Titer des Rinderserums ist. Vor Gebrauch eines Rinderserums als Amboceptor ist deshalb die Feststellung seiner konglutinierenden und agglutinierenden Eigenschaften gegen Schafblutkörperchen notwendig. — Während die Feststellung der kleinsten agglutinierenden Dosis durch Mischen fallender Mengen von Rinderserum mit Schafblutkörperchenaufschwemmung unter Auffüllung der Serummengen mit 0,85% NaCl-Lösung auf 2,0 ccm Volumen leicht gelingt, ist eine genaue Auswertung des konglutinierenden Amboceptors bei Gebrauch frischen Komplementpferdeserums nicht ausführbar, da das Resultat der Prüfung mit jedem neuen Komplement infolge des verschiedenen Gehalts der Pferdeseren an Hämagglutininen ein anderes werden muß. Die Titration des konglutinierenden Rinderserums geschieht deshalb unter Verwendung eines Komplements, das nachweisbare Mengen von Hämagglutininen nicht besitzt. Ein solches Komplement wird durch Mischen von gewaschenen Schafblutkörperchen mit frischem Pferdeserum und Aufbewahrung des Gemisches in einem Eisbehälter hergestellt. Da die Agglutinine die Fähigkeit haben, sich in der Kälte an die Blutkörperchen zu binden, erhält man nach einigen Stunden durch Ausschleudern ein Serum, das fast frei von agglutinierenden Eigenschaften ist, ohne daß das Komplement merklich geschädigt wird. — Die Amboceptorauswertung wird nun mit je

0,05 ccm des so behandelten Komplements vorgenommen. Als Arbeitsdosis gilt die 5—10fache Titermenge, falls die doppelte Gebrauchsdosis ohne Komplementzusatz eine Agglutination der Schafblutkörperchen nicht hervorruft (Pohle). — Das konglutinierende Rinderserum wird 35 Minuten bei 56° inaktiviert und durch Zusatz von 0,5% Phenol konserviert, es bleibt auf diese Weise mehrere Wochen haltbar. Die Einstellung des etwa 24 Stunden alten Komplements geschieht dergestalt, daß es in steigenden Mengen von 0,01 bis 0,1 ccm nach Bindung mit 0,05 ccm rotzfreien und der Bindungswertmenge eines rotzigen Serums ausgewertet wird. Als Gebrauchsdosis des Komplements wird dann die größte vollkommen konglutinationshemmende Komplementmenge in der Rotzserumreihe gewählt, sofern die gleiche Menge in der Normalserumreihe und der gleichzeitig anzusetzenden serumfreien Extraktreihe eine restlose Konglutination bewirkt (siehe Tabelle 1, 2, 3).

Tabelle 1.

Komplement	Rotzserum	Rotzbacillenextrakt	Konglutinierendes Rinderserum	Gewaschene Schafblutkörperchen	Ergebnis
Jede Dosis wird mit NaCl-Lösung (0,85%) auf 0,1 ccm aufgefüllt	Bindungswert in 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten	Gebrauchsdosis in 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten	Gebrauchsdosis in 1,0 ccm Flüssigkeit enthalten	2—3%	
0,01 ccm	0,3 ccm	0,3 ccm	1,0 ccm	2 Tropfen	+
0,02 „					+
0,03 „					+
0,04 „					+
0,05 „					+
0,06 „					**+**
0,07 „					±
0,08 „					—
0,09 „					—
0,1 „					—

Tabelle 2.

Komplement	Rotzfreies Pferdeserum	Rotzbacillenextrakt	Konglutinierendes Rinderserum	Gewaschene Schafblutkörperchen	Ergebnis
Jede Dosis wird mit NaCl-Lösung (0,85%) auf 0,3 ccm aufgefüllt	Je 0,05 ccm mit NaCl-Lösung (0,85%) auf 0,3 ccm aufgefüllt	Gebrauchsdosis in 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten	Gebrauchsdosis in 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten	2—3%	
0,01 ccm	0,3 ccm	0,3 ccm	1,0 ccm	2 Tropfen	+
0,02 „					+
0,03 „					±
0,04 „					—
0,05 „					—
0,06 „					**—**
0,07 „					—
0,08 „					—
0,09 „					—
0,1 „					—

Tabelle 3.

Komplement	Rotzbacillen-extrakt	NaCl-Lösung	Konglutinierendes Rinderserum	Gewaschene Schafblutkörperchen	Ergebnis
Jede Dosis wird mit NaCl-Lösung (0,85%) auf 0,3 ccm gebracht	Gebrauchsdosis in 0,3 ccm Flüssigkeit enthalten		Gebrauchsdosis in 1,0 ccm Flüssigkeit enthalten	2—3 %	
0,01 ccm	0,3 ccm	0,3 ccm	1,0 ccm	2 Tropfen	+
0,02 „					+
0,03 „					±
0,04 „					—
0,05 „					—
0,06 „					—
0,07 „					—
0,08 „					—
0,09 „					—
0,1 „					—

Die Gebrauchsdosis des Komplements ist nach Tabelle 1, 2, 3 = 0,06 ccm.

Zeichenerklärung: + = vollständige Hemmung,
± = unvollständige Hemmung oder unvollständige Konglutination,
— = vollständige Konglutination.

Die Verwendung vollkommen frischen Pferdeserums als Komplement wird nicht empfohlen, da der anfangs hohe Komplementgehalt oft nach einigen Stunden nachläßt; am besten eignet sich das etwa 24 Stunden alte Pferdeserum.

Der Rotzbacillenextrakt wird in der für die Komplementablenkungsmethode üblichen Weise hergestellt; auch die Auswertung des Extrakts erfolgt analog nach dem für die Komplementablenkung gebräuchlichen Verfahren, und zwar in einer Versuchsreihe mit einem rotzigen, in einer zweiten Reihe mit einem rotzfreien Pferdeserum und in einer dritten Reihe auf eigenhemmende Eigenschaften. Als Arbeitsdosis wird die dreifache Titermenge des Rotzbacillenextraktes genommen, sofern sie nicht größer ist als die halbe unterbindende Dosis und sofern sie mit einem rotzfreien Serum die Konglutination nicht hemmt.

Der Untersuchungsgang gestaltet sich folgendermaßen: Mit den ausgewerteten Reagentien wird zunächst das Komplement nach Tabelle 1—3 eingestellt. Die zu untersuchenden inaktivierten Pferdeseren werden in der Menge von 0,05 ccm angesetzt. Nach Zusatz von Rotzbacillenextrakt und Komplement wird gut geschüttelt, und man läßt das Komplement bei Zimmertemperatur 15 Minuten binden. Nach Hinzufügen von Amboceptor und zwei Tropfen einer 2—3%igen Schafblutkörperchenaufschwemmung stellt man die Rahmen zwei Stunden in den Brutschrank oder auf das zum Inaktivieren der Serumproben dienende Wasserbad und zentrifugiert 1/2 Minute bei 1000 Umdrehungen. Die Flüssigkeitsmenge beträgt in jedem Röhrchen 2 ccm, Komplement, Antigen werden mit 0,85% NaCl-Lösung so verdünnt, daß die Arbeitsdosis in 0,3 ccm enthalten, das Rinderserum so verdünnt, daß die Gebrauchsdosis in 1,0 ccm enthalten

ist. — Gleichzeitig mit jedem Versuch müssen folgende Kontrollen angesetzt werden, die zeigen, daß

1. die doppelte Dosis des zu untersuchenden Pferdeserums nicht hemmt,
2. die doppelte Gebrauchsdosis des Antigens nach Bindung mit dem Komplement die Konglutination nicht hemmt,
3. die doppelte Gebrauchsdosis des Komplements eine Zusammenballung der Blutkörperchen nicht herbeiführt,
4. die doppelte Gebrauchsdosis des Amboceptors ohne Komplementzusatz eine Zusammenballung der Blutkörperchen nicht bewirkt,
5. die NaCl-Lösung die Blutkörperchen nicht konglutiniert,
6. das zu untersuchende Serum mit der Gebrauchsdosis des Amboceptors und derjenigen des inaktivierten Komplements und mit Blutkörperchen gemischt keine Hämagglutination hervorrufen,
7. ein positives Rotzserum im vollständigen Versuch eine positive Reaktion zeigt,
8. ein rotzfreies Pferdeserum (0,05 ccm) im vollständigen Versuch einen negativen Reaktionsausschlag hervorruft.

Das Ergebnis wird unter Aufschütteln der Versuchsröhrchen abgelesen: bei vollständiger Konglutination zerfällt der Bodensatz beim Schütteln in grobfaserige zusammenhängende Flocken, und die Flüssigkeit bleibt klar; bei vollständiger Hemmung werden die am Boden liegenden Blutkörperchen beim Schütteln wie ein feiner Staub aufgewirbelt, wobei eine rote Trübung der Flüssigkeit entsteht; bei unvollständiger Hemmung oder unvollständiger Konglutination erscheint beim Schütteln ein Teil des Bodensatzes zusammengeballt, der andere Teil wird aufgewirbelt und verursacht eine leichte Trübung der Flüssigkeit. Seren, die einen positiven oder zweifelhaften Reaktionsausschlag zeigen, werden in fallenden Mengen (0,1, 0,05, 0,02, 0,01 ccm) nachgeprüft.

Die Konglutinationsmethode ist während des Krieges neben den vorgeschriebenen Agglutinations- und Komplementablenkungsmethoden bei den Blutuntersuchungen nach der von Pfeiler und Weber angegebenen Technik, nach der von Waldmann (65, 66) und von Müller und Pohle abgeänderten und weiter ausgebauten Versuchsanordnung sehr häufig zur Kontrolle mit herangezogen worden. Dabei hat sie sich als eine immerhin beachtenswerte Methode erwiesen. Bei der Untersuchung der Seren von Eseln, Maultieren und Mauleseln, also bei Seren mit antikomplementären Eigenschaften, ist sie an Stelle der unbrauchbaren Komplementablenkungsmethode anzuwenden. Ob sie aber bei diesen Tierarten etwa der Augenprobe und der subcutanen Malleinprobe gleichwertig ist, bedarf noch einer eingehenden Prüfung. Ein weiterer Vorteil liegt in der Möglichkeit ihrer Anwendung, wenn Meerschweinchen nicht vorhanden sind. Für Serien- und Massenuntersuchungen ist sie in der ursprünglich von Pfeiler und Weber und später von Waldmann angegebenen Versuchsanordnung weniger brauchbar. Fälle, in denen die Methode bei rotzfreien Seren ein rotzpositives Ergebnis zeigte, sind nicht selten gewesen. Diese Fälle wurden nach der Anwendung der von Müller und von Pohle angegebenen Technik allerdings seltener; jedoch ist diese Technik mit ihren vielen Kontrollen, sofern alle Fehlerquellen ausgeschaltet

werden sollen, im Vergleich zur Komplementablenkung sehr umständlich und bietet nicht geringe Schwierigkeiten. Zugegeben kann werden, daß die Konglutinationsmethode sich in ganz einzelnen Fällen von chronischem Rotz der Komplementablenkungsmethode überlegen zeigte; ein besonderer Wert für die Ermittelung chronisch rotzkranker Pferde kann indessen aus diesen Fällen nicht abgeleitet werden, denn es stehen solchen Fällen nicht wenige gegenüber, in denen sie bei rotzkranken Pferden versagte. Die gleichzeitige und allgemeine Anwendung der Konglutinationsmethode neben der Komplementablenkungsmethode nach Schütz und Schubert erübrigt sich; es kommt der Konglutination — abgesehen von ihrer Anwendung bei Untersuchungen von Seren von Eseln, Maultieren und Mauleseln — für die Rotztilgung nur eine untergeordnete Rolle zu.

5. Hämagglutination.

An die Versuche von Ehrlich und Sachs (56) im Jahre 1902, nach denen beim Zusammenbringen von aktivem Rinderserum und Blutkörperchen von Meerschweinchen eine schnelle und vollständige Lösung eintritt, knüpft ebenso wie die Konglutinationsmethode auch die Hämagglutinationsmethode an. Das Hämagglutinationsverfahren ist ebenfalls eine abgeänderte Komplementablenkungsmethode und besteht aus einer Komplementablenkung, gekennzeichnet durch Hämagglutination. An Stelle des bei der Komplementablenkungsmethode nach Schütz und Schubert gebrauchten hämolytischen Systems (Meerschweinchenkomplement, hämolytischer Immun-Amboceptor des Kaninchenserums und rote Blutkörperchen des Schafes) tritt bei der Hämagglutination ein anderes System ein: Pferdeserum als Komplement, frisch entnommenes inaktiviertes Rinderserum als hämolytischer Normal-Amboceptor und rote Blutkörperchen des Meerschweinchens. Die Ablenkung des Komplements wird durch eine Zusammenballung der Meerschweinchenblutkörperchen angezeigt; sind die Bedingungen für eine Ablenkung nicht gegeben, so findet Lösung der roten Blutkörperchen statt. Tritt also eine Zusammenballung der Meerschweinchenblutkörperchen ein, so stammt das zu untersuchende Serum von einem rotzkranken Pferde; tritt Lösung der Blutkörperchen ein, so rührt das Serum von einem rotzfreien Pferde her. Der wesentliche Unterschied zwischen Komplementablenkungs- und Hämagglutinationsmethode liegt im Komplement. Die Hämagglutination benutzt als Komplement frisches Pferdeserum, die Komplementablenkung Meerschweinchenserum.

Schütz und Waldmann (67) haben diese Methode im Jahre 1914 unter dem Namen der „abgeänderten Komplementablenkungsmethode" eingeführt und speziell für den serologischen Nachweis der Rotzkrankheit bei Eseln und Maultieren empfohlen. Eine Beschreibung der Technik des Verfahrens haben Schütz und Waldmann bei der Besprechung der Methode nicht gegeben, sie ist durch Waldmann (66) im Jahre 1916 erfolgt.

Die von Waldmann angegebene Technik schreibt eine konstante Amboceptormenge und Extraktmenge vor und unterscheidet einen Vorversuch, in dem die Brauchbarkeit des hämolytischen Systems festgestellt wird, einen orientierenden Hauptversuch für die Bestimmung der erforderlichen Komplementmenge und den eigentlichen Versuch, der wie bei der Komplementablenkungsmethode nach Schütz und Schubert durchgeführt wird. Es werden diejenigen Rinderseren für den Versuch genommen, die nach $^1/_2$ stündiger Inaktivierung bei 54° in der Menge von 0,03 ccm bei Gegenwart von 0,1 ccm frischen unverdünnten Pferdeserums innerhalb 30 Minuten bei Brutschranktemperatur vollkommene Hämolyse der roten Blutkörperchen des Meerschweinchens (0,2 ccm einer 2%igen Aufschwemmung) hervorrufen. Im Vorversuch werden die Reagenzröhrchen mit 0,03 ccm Rinderserum (1 ccm der Verdünnung 3 : 100), 0,1 ccm des unverdünnten Komplements und 0,2 ccm einer 2%igen Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung beschickt und durch Zusatz von 0,8 ccm NaCl-Lösung auf 2 ccm gebracht und $^1/_2$ Stunde im Brutschrank gehalten. Entsprechend angesetzte Kontrollen geben darüber Aufschluß, ob nicht das Rinderserum oder das Pferdeserum für sich allein Hämolyse bewirken. Sind die Reagentien für den Versuch geeignet, so sind in den Versuchsröhrchen die Meerschweinchenblutkörperchen vollständig gelöst, und der Inhalt erscheint gelbrot und klar, in den Kontroll-

röhrchen liegen die Blutkörperchen in Gestalt einer glattrandigen roten Scheibe am Boden. Weder das Pferdeserum noch das inaktivierte Rinderserum dürfen in den angegebenen Mengen für sich allein Hämolyse hervorrufen. — Für den sog. orientierenden Hauptversuch sind für die Titration des Komplements stets sechs Standardseren, und zwar drei Seren von rotzkranken Pferden mit bekannten und unter sich verschiedenen Werten und drei Seren von gesunden Pferden notwendig. Fallende Mengen von 0,2—0,02 ccm dieser Seren werden mit der konstanten Extraktmenge (1 ccm der Verdünnung 1 : 100) vermischt. Von diesem Serumextraktgemisch werden vier Reihen angesetzt. Darauf werden von dem frischen Pferdeserum als Komplement in der ersten Reihe 0,06 ccm, in der zweiten 0,07 ccm, in der dritten 0,08 ccm und in der vierten Reihe 0,1 ccm des unverdünnten Pferdeserums jedem Röhrchen zugesetzt.

Nach einem Aufenthalt von 15—20 Minuten im Brutschrank werden die konstante Menge Rinderserum (1 ccm der Verdünnung 3 : 100) sowie 0,2 ccm der 2 %igen Meerschweinchenblutkörperchen-Aufschwemmung hinzugefügt. Nach einstündigem Verweilen im Brutschrank kann das Ergebnis abgelesen werden. Bei den drei Seren von gesunden Pferden tritt Hämolyse ein, die Flüssigkeit wird rötlichgelb und klar, bei den drei Seren von rotzkranken Pferden ist der Röhrcheninhalt gleichmäßig trüb, die Blutkörperchen bleiben ungelöst und senken sich nach 3—4 Stunden zu Boden; beim Schütteln sieht man, daß sie zusammengeballt hämagglutiniert sind. — Der Ausfall dieses Versuches gibt Aufschluß über die zweckmäßigste Menge des Komplements. Es wird diejenige Menge benutzt, mit welcher bei den Seren der rotzkranken Pferde die stärkste Ablenkung erzielt wird und die gleichzeitig bei den Seren der rotzfreien Pferde vollständige Hämolyse hervorruft (meist 0,07—0,08 ccm). Wird stets dasselbe Pferd zur Komplementgewinnung benutzt, so braucht die Auswertung wöchentlich nur einmal vorgenommen werden.

Pfeiler und Scheyer (68) bezeichnen die Methode im Jahre 1915 mit K.-H.-Reaktion, da sie sich zusammensetzt aus der Komplementbindung (K.) und der Hämagglutination (H.). Die Technik des Hämagglutinationsverfahrens zur Erkennung der Rotzkrankheit wurde zuerst von Pfeiler und Scheffler (69) beschrieben und nach Prüfung an über 5000 Fällen als ein sehr beachtenswertes Verfahren bezeichnet.

Der von Pfeiler und Scheffler angegebene Untersuchungsgang setzt sich zusammen aus der Einstellung des Amboceptors, der Titration des Extraktes und des Komplements und dem eigentlichen Versuch. Bei der Auswertung des Amboceptors wird das Pferdeserumkomplement 10—12 %ig genommen. Die bei der Auswertung gefundene niedrigste Amboceptormenge, mit welcher das Komplement lösen kann, wird im Hauptversuch in doppelter Stärke benutzt (in der Regel 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 5). — Die Titration des Extraktes erfolgt in der gewöhnlichen Weise wie bei der Komplementablenkung nach Schütz-Schubert, die Gebrauchsdosis ist in der Regel 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 10; gleichzeitig mit dem Extrakt wird das Komplement ausgewertet; für den Hauptversuch wird nicht die geringst lösende Menge (in der Regel 0,06 ccm) des Komplements angesetzt, sondern ein Überschuß von 0,02 ccm gebraucht. Von den Meerschweinchenblutkörperchen wird eine 1 %ige Aufschwemmung hergestellt und für den Versuch 1 Tropfen dieser Aufschwemmung benutzt. — Nach Auswertung der Medien folgt der eigentliche Versuch, in dem fallende Mengen des zu untersuchenden Serums angesetzt werden (0,2, 0,1, 0,05, 0,02 ccm), und der im übrigen nach Art des Komplementablenkungsverfahrens von Schütz-Schubert vor sich geht.

Kranich und Kliem (70) schlagen bei der Besprechung des Verfahrens für die Methode den Namen „Hämagglutination“ vor; da durch diese Bezeichnung das Verfahren einerseits hinreichend gekennzeichnet werde und anderseits bei der Bezeichnung „Konglutination“ ebenfalls zwei Vorgänge (Komplementablenkung und Konglutinationshemmung) ablaufen. Die Methode wurde von ihnen nach der von Pfeiler und Scheffler angegebenen Technik nachgeprüft, und es wurden von ihnen gute Erfolge erzielt. Eine Einstellung der Medien auf je 1 ccm erschien den Autoren jedoch für Massenuntersuchungen zweckmäßiger, und sie arbeiteten dementsprechend einen bestimmten Untersuchungsgang aus, der sich eng an das Komplementablenkungsverfahren nach Schütz-Schubert anlehnt.

Der Untersuchungsgang besteht aus einer Vorprüfung, aus der Einstellung des Systems und dem eigentlichen Versuch. — Die Vorprüfung erstreckt sich auf die Prüfung des Pferdeserumkomplements auf Eigenlösung und die

Prüfung des Rinderserums, ob es konzentriert nicht löst und verdünnt noch hämagglutiniert. — Die Einstellung des Systems beginnt mit der Auswertung des Amboceptors; hierzu wird das Pferdeserumkomplement 12% genommen (siehe Tabelle):

Auswertung des Amboceptors.

Inaktiv. Rinderserum 1 : 10	Pferdeserum 1 : 10	Na Cl-Lösung 0,85 %	2 Tropfen Meerschweinchenblutkörperchen	20 Minuten Wasserbad 38—40°
0,2	1,2	2,6	desgl.	desgl.
0,4	1,2	2,4	"	"
0,6	1,2	2,2	"	"
0,8	1,2	2,0	"	"
1,0	1,2	1,8	"	"
1,2	1,2	1,6	"	"
1,5	1,2	1,3	"	"
2,0	1,2	0,8	"	"

Die niedrigste Amboceptormenge — die Amboceptoreinheit — wird im Hauptversuch in 2—3facher Stärke genommen; beträgt die Amboceptoreinheit z. B. 10, dann kann das Rinderserum in 20—30%iger Verdünnung verwandt werden. Die Auswertung des Komplements erfolgt mit der 2—3fachen Amboceptoreinheit; das Komplement wird — im Gegensatz zu Pfeiler und Scheffler und Waldmann — im Hauptversuch in seiner geringst lösenden Menge benutzt. Die Auswertung erfolgt z. B. in folgender Weise (siehe Tabelle):

Auswertung des Komplements.

Pferdeserum 1 : 10	Inaktiv. Rinderserum 1 : 10	Na Cl-Lösung 0,85 %	2 Tropfen Meerschweinchenblutkörperchen	20 Minuten Wasserbad 38—40°
0,2	2,0	1,8	desgl.	desgl.
0,4	2,0	1,6	"	"
0,5	2,0	1,5	"	"
0,6	2,0	1,4	"	"
0,7	2,0	1,3	"	"
0,8	2,0	1,2	"	"
0,9	2,0	1,1	"	"
1,0	2,0	1,0	"	"
1,1	2,0	0,9	"	"
1,2	2,0	0,8	"	"

Die Auswertung des Rotzbacillenextraktes geschieht in der üblichen Weise wie bei der Komplementablenkungsmethode in drei Versuchsreihen von 0,1—10%igen Verdünnungen. Nach der Einstellung der Medien folgt der eigentliche Versuch: Man inaktiviert 0,2 ccm des zu untersuchenden Serums unter Hinzufügung von 1 ccm Na Cl-Lösung 15 Minuten lang bei 58—60°; darauf gibt man je 1 ccm Komplement

und Extrakt hinzu, läßt 15 Minuten lang im Wasserbad bei 38—40° binden, fügt 1 ccm Amboceptor sowie 2 Tropfen einer 1 %igen Aufschwemmung von roten Blutkörperchen des Meerschweinchens hinzu und läßt sodann im Wasserbad bei 38—40° lösen. — Als Kontrollen werden angesetzt: eine Serumkontrolle (ohne Extrakt), eine Extraktkontrolle (doppelte Extraktmenge ohne Serum) und je eine Kontrolle mit positivem und negativem Serum. — Bei Seren rotzfreier Pferde zeigt sich nach spätestens 20 Minuten Lösung, bei Seren rotzkranker zunächst Trübung, und die Blutkörperchen setzen sich zu Boden.

Zeigt das Serum bei 0.2 ccm Rotz an, dann folgt eine Nachprüfung und zwar mit fallenden Mengen (0,1, 0,05, 0,02 ccm). Um den Vorgang und das Ablesen des Versuches zu beschleunigen, wird empfohlen, die Röhrchen nach dem Herausnehmen aus dem Wasserbade ½ Minute zu zentrifugieren; man erhält dann im positiven Falle einen roten Schleier am Boden des Gläschens, der beim Aufschütteln zerreißt, ohne die Flüssigkeit zu trüben.

Die Hämagglutinationsmethode nach der von Pfeiler und Scheffler, von Waldmann und besonders nach der von Kranich und Kliem angegebenen Technik ist während des Krieges in den einzelnen Blutuntersuchungsstellen an vielen Tausenden von Pferden und an vielen Hunderten von Eseln und Maultieren neben den vorgeschriebenen Methoden vergleichsweise angewandt worden. Die Technik nach Kranich und Kliem hat sich — mit der Abweichung, daß die geringst lösende Menge des Komplements mit 0,02 ccm Überschuß als Gebrauchsdosis verwendet wurde — für Massen- und Serienuntersuchungen am besten bewährt. Bei den vergleichenden Untersuchungen hat sich gezeigt, daß die Hämagglutination für die Untersuchung der Sera von Eseln und Maultieren eine brauchbare Methode ist; auch bei den systematischen Untersuchungen von Pferde-Blutproben lieferte sie beachtenswerte Ergebnisse; eine Überlegenheit gegenüber der kombinierten Komplementablenkungs- und Agglutinationsmethode konnte indessen nicht festgestellt werden. Bei 4—5 Tage alten und älteren Seren wurden manchmal die Untersuchungsergebnisse zweifelhaft; die Seren müssen daher möglichst frisch zur Untersuchung kommen. Als besonders störend wurde auch die geringe Haltbarkeit des inaktivierten Rinderserums empfunden, das am besten nicht länger als 3—5 Tage verwendet wird; auch störte die eigenhemmende Wirkung mancher Rotzbacillenextrakte, die für den Komplementablenkungsversuch nach Schütz-Schubert sonst brauchbar waren. Besondere Aufmerksamkeit ist ferner den Meerschweinchenblutkörperchen zuzuwenden, die manchmal Spontanhämolyse zeigen, bei Ausführung des Versuches sind entsprechende Kontrollen anzusetzen. — Für die Bewertung der Leistungsfähigkeit der Hämagglutinationsmethode gilt das, was für die Konglutination gesagt worden ist: sie ist für die Untersuchung der Seren von Eseln, Maultieren und Mauleseln eine gute Methode, für die Rotztilgung kommt ihr keine selbständige, sondern nur eine unterstützende Rolle zu, und eine allgemeine und gleichzeitige Anwendung neben der Komplementablenkungsmethode nach Schütz und Schubert erübrigt sich.

III. Chemische Untersuchungen an Seren.

Im Anschluß an die chemisch-physikalischen Untersuchungen bei Lues, stellten Burow (unveröffentlicht) sowie Kranich und Dereser (71) in den Jahren 1915 und 1916 chemische Untersuchungen an Seren rotzkranker und gesunder Pferde auf ihren Eiweißgehalt, insbesondere auf das Albumin-Globulinverhältnis an. Aus ihren Untersuchungen ergibt sich, daß bei den Seren rotzkranker Pferde der Globulingehalt den Albuminwert übertrifft, während bei gesunden Pferden das Verhältnis Albumin: Globulin sich umgekehrt verhält. Kranich und Dereser benutzten bei der Ausführung der von ihnen als „Säureprobe" bezeichneten Reaktion 3,5 %ige Salzsäure, Burow Kupfersulfatlösung. Nach dem Verfahren von Kranich und Dereser wird die Reaktion folgendermaßen ausgeführt: Zu 1 ccm des zu prüfenden, möglichst frischen Serums und gleichzeitig zu 1 ccm gleichalterigen Serums eines gesunden Pferdes gibt man je 2 ccm 3,5 %iger Salzsäure, schüttelt kurz um und beobachtet bei auffallendem Lichte (gegen dunklen Hintergrund), ob während der ersten Minute das Prüfungsserum im Vergleich zum Normalserum eine Trübung zeigt. — Da die Säureprobe jedoch auch bei zahlreichen anderen Krankheiten, z. B. Druse, Brustfellentzündung, ausgedehnten eitrigen Prozessen usw. gleichfalls eine Globulinvermehrung ergab und bei älteren Seren sehr oft versagte, so kam die Methode weder zum Nachweis der Rotzkrankheit noch zur Unterstützung der bekannten serodiagnostischen Methoden in Frage.

Nachdem Meinicke (72) im Mai 1917 in der Berliner medizinischen Gesellschaft über die Theorie der sog. „Lipoidbindungsmethode" und über günstige Untersuchungsergebnisse von 800 Seren, darunter 200 positiven Luesseren durch diese Methode berichtet hatte und die Reaktion bei Lues mehrfach versucht war, wurde von ihm und Bley (73) die Lipoidbindungsmethode für die Diagnose der Rotzkrankheit ausgearbeitet und praktisch verwertet. Sie wandten die Methode bei einigen tausend Seren an und haben, wenn auch die Methode eine Anzahl rotzverdächtiger, schwach komplementbindender Sera nicht anzeigte, immerhin beachtenswerte Ergebnisse erzielt. Die Autoren kommen zu der Schlußfolgerung, daß ihre Lipoidbindungsmethode für Rotz in gleichem Maße spezifisch ist wie die bisher bekannten serologischen Reaktionen. Der Agglutination scheine sie an praktischer Leistungsfähigkeit überlegen zu sein. — In einer weiteren Arbeit berichten Meinicke und Neumann (74) über die Mitbenutzung eines Koliextraktes neben dem Rotzbacillenextrakt und über eine leicht abgeänderte und verbesserte Technik der Methode, nach welcher die Reaktion erheblich an Sicherheit gewonnen und einen wesentlich größeren Wirkungskreis habe als die Agglutination und Komplementablenkungsmethode für sich allein. — Ferner empfiehlt Bley (75) die Untersuchungen am besten mit aktivem Serum auszuführen, weil manche Seren im inaktiven Zustande keine Flockung zeigten.

Über Nachprüfungen über die Leistungsfähigkeit dieser Methode ist bisher nichts bekannt geworden. Ich selbst besitze hierüber eigene Erfahrungen nicht, weshalb ich von einer rein referierenden Besprechung der Technik absehe.

IV. Bewertung der Methoden;

Schwankungen in der Antikörperbildung; aspezifische Beeinflussungen und Hemmungen.

Die Präcipitations-, Konglutinations-, Hämagglutinationsmethode und die Säureprobe nach Burow und Kranich wurden neben der vorgeschriebenen kombinierten Agglutinations- und Komplementablenkungsmethode von den verschiedenen Blutuntersuchungsstellen während des Krieges häufig zur Kontrolle und vergleichsweise mitherangezogen. Im allgemeinen wurde bei diesen vergleichenden Untersuchungen festgestellt, daß ein Parallelismus zwischen Komplementablenkungs-, Konglutinations- und Hämagglutinationsmethode besteht: ist die Komplementablenkung beispielsweise stark positiv, so kann man in der Regel auch gleichzeitig eine starke Hemmung der Konglutination und einen starken Eintritt der Hämagglutination beobachten, während

anderseits meistens jene Fälle, die bei der Komplementablenkung zweifelhaft sind, auch bei der Konglutination und Hämagglutination undeutliche Reaktionsausschläge ergeben. Dieser Parallelismus konnte in den einzelnen Blutuntersuchungsstellen an vielen tausenden von Fällen festgestellt werden. Noch immer ist die ursprüngliche Komplementablenkungsmethode von Schütz und Schubert am zuverlässigsten. Fälle, die durch sie nicht geklärt werden können, lassen sich weder durch die Konglutination noch durch die Hämagglutination klären; es werden vielmehr durch die Anwendung der letzteren die fraglichen Fälle nur noch vermehrt, weshalb in ihrer Anwendung für die Rotztilgung unter den Pferdebeständen kein praktischer Fortschritt und keine Verbesserung der Rotzdiagnostik erkannt werden kann. — Die Präcipitationsmethode bleibt bezüglich ihrer Leistungsfähigkeit weit hinter den drei vorgenannten Methoden zurück; die Säureprobe nach Burow und nach Kranich hat sich nicht bewährt; über die Lipoidreaktion nach Meinicke und Bley läßt sich noch kein endgültiges Urteil abgeben. — Als das leistungsfähigste sero-diagnostische Verfahren hat sich die kombinierte Agglutinations- und Komplementablenkungsmethode erwiesen.

Man hat im Laufe des Krieges bei den vielen ausgeführten serologischen Untersuchungen an den verschiedensten Orten feststellen können, daß die nachgewiesenen Antikörper nicht immer in der gleichen Menge im Serum eines rotzkranken Tieres vorhanden sind, und hat gefunden, daß Schwankungen und selbst vorübergehende Pausen in der Antikörperbildung (Schwinden der Antikörper) vorkommen. Beispiele für diese Erscheinungen sind von Zschiesche und Biermann (76) und von Biermann (77) beschrieben worden. Für das Auftreten dieser Schwankungen und Pausen kommen wohl in erster Linie Heilungsvorgänge in den Rotzprozessen und Schwankungen im Krankheitsverlauf in Betracht, ferner können die individuell verschiedenen Grade der Reaktionsfähigkeit und allgemeine gesundheitsschädliche Einflüsse eine Rolle spielen. — Aus dieser wichtigen Kriegserfahrung geht für die Rotztilgung hervor, daß eine einmalige Blutuntersuchung keinen sicheren Anhalt für den Gesundheitszustand eines Pferdebestandes abgibt, daß vielmehr hierfür mehrere Untersuchungen in größeren Zwischenräumen notwendig sind.

Man hat des weiteren festgestellt, daß die sero-diagnostischen Methoden vereinzelt auch bei nichtrotzkranken Pferden positiv ausfallen können. Diese seltenen Vorkommnisse sind einesteils als sog. „aspezifische Beeinflussungen" der serologischen Rotzdiagnose durch andere Krankheiten bezeichnet worden, anderseits als „echte aspezifische Hemmungen", d. h. rotzpositive Reaktionen bei zweifellos rotzfreien und gesunden Tieren in die Erscheinung getreten. Für die aspezifische Beeinflussung der serologischen Rotzdiagnose sollen verschiedene Krankheiten, wie Druse, pyämische Zustände nach Druse, Blutfleckenkrankheit, Rotlaufseuche, Tuberkulose, Lungenbrustfellentzündung, stark eiternde Prozesse (Widerristschäden), starke Abmagerung, ausgebreitete Räude (mit Kachexie), Wunden mit Nekrose, Neubildungen u. a. die Ursache sein. Die echten aspezifischen Hemmungen sind in der Regel auf

antikomplementäre Substanzen zurückzuführen, die das Komplement im chemischen Sinne schädigen sollen, also nicht identisch mit einer Bindung sind. Solche antikomplementäre Substanzen kommen z. B. im Serum vieler Esel, Maultiere und Maulesel und vereinzelt auch im Serum von gesunden Pferden vor. Sind sie im reichlichen Maße vorhanden, so hemmt das Serum schon allein ohne Extraktzusatz, sind sie in nur geringerem Maße vorhanden, so tritt die störende Hemmungserscheinung erst nach Zusatz von Rotzbacillenextrakt oder aber auch eines anderen Bacillenextraktes zutage. Über das Auftreten dieser echten nichtspezifischen Antikörper bei Pferden ist durch fortlaufende Untersuchungen festgestellt worden, daß sie nicht zu jeder Zeit nachzuweisen sind, sondern allmählich verschwinden und nach gewissen Zwischenräumen wieder auftreten können. Ihre Nichtspezifität konnte in einigen Fällen durch die Konglutination und Hämagglutination festgestellt werden, teilweise konnte sie durch Verwendung höherer Serummengen (0,3, 0,4 ccm) sowie durch längeres Inaktivieren und durch Inaktivieren bei höheren Temperaturen (60°) zum Verschwinden gebracht werden. Um eine Klärung dieser Fälle herbeizuführen, hat man verschiedentlich versucht, neben dem Rotzbacillenextrakt auch aspezifische Extrakte zum Komplementablenkungsversuch zu benutzen. Man ging dabei von der Annahme aus, wenn ein Serum nicht nur mit dem Rotzbacillenextrakt, sondern auch mit anderen Extrakten das Komplement bindet, daß die mit dem Rotzbacillenextrakt erzielte Bindung eine nichtspezifische sei. Als aspezifische Extrakte sind benutzt worden: Typhus-, Ferkeltyphus-, Paratyphus-B-Extrakt, Streptokokken und Staphylokokkenextrakt, Lueseextrakt, Proteus-, Pyocyaneus-, Abortusbacillenextrakt u. a. m. Die polyvalenten Extrakte haben in der Untersuchung dieser Fragen dem gewöhnlichen Rotzbacillenextrakt gegenüber keine Überlegenheit gezeigt. Über die Verwertbarkeit der aspezifischen Extrakte sind die Ansichten geteilt geblieben. Fontaine und Lütje (78) empfehlen ihre Anwendung. Nach meinen persönlichen Erfahrungen, die sich mit denen vieler anderer decken, kommen sowohl die aspezifische Beeinflussung der serologischen Rotzdiagnose durch andere Krankheiten als auch die echten aspezifischen Hemmungen bei exakter Ausführung der Komplementablenkungsmethode so selten vor, daß von der Verwendung polyvalenter und aspezifischer Extrakte bei den Blutuntersuchungen abgesehen werden kann, besonders wenn neben der Blutuntersuchung auch noch die Augenprobe ausgeführt wird.

V. Schlußsätze.

Die während des Krieges gemachten Erfahrungen fasse ich dahin zusammen:

1. Die Rotzkrankheit wird am sichersten festgestellt durch die gleichzeitige Anwendung der Blutuntersuchung (Agglutination + Komplementablenkung) und der Augenprobe.

2. Der Grundpfeiler für die Blutuntersuchung bleibt die Komplementablenkungsmethode.

3. Für die Untersuchung von Eseln, Maultieren und Mauleseln ist die Konglutination oder Hämagglutination in Anwendung zu bringen.

4. Voraussetzung für verwertbare Ergebnisse bei der Malleinaugenprobe ist ein gutes Mallein und die frühzeitige und wiederholte Besichtigung der malleinisierten Tiere.

5. Nach wiederholten verschiedenartigen Ergebnissen zwischen Blutuntersuchung und Augenprobe ist zur Klärung des Falles zweckmäßig bei fieberfreien Pferden, Eseln, Maultieren und Mauleseln die subcutane Malleinprobe auszuführen.

6. Bei der Beurteilung der Subcutanprobe sind die Ergebnisse der thermischen, lokalen und allgemeinen Reaktion gegenseitig abwägend zu berücksichtigen.

7. Eine nur einmalige Anwendung der kombinierten Untersuchungsmethoden (Blutuntersuchung + Augenprobe) ist bei der Rotztilgung nicht ausreichend; um einen sicheren Überblick über den Gesundheitszustand der Pferdebestände zu gewinnen, ist das Untersuchungsverfahren mehrmals und in größeren Zeitabständen zu wiederholen.

8. Neben den kombinierten Untersuchungsmethoden ist eine häufige und sorgsame klinische Untersuchung der Pferdebestände vorzunehmen.

Literatur.

1. Helmann, Archiv d. Gesellsch. d. Tierärzte 1891 (russisch), zitiert nach Foth.
2. Derselbe, Bote für öffentl. Veterinärwesen 1891 (russisch), zitiert nach Wladimiroff.
3. Kalning, ebenda, zitiert nach Foth.
4. Derselbe, Archiv f. Veterinärwissenschaft 1891 (russisch), zitiert nach Wladimiroff.
5. Troester, Zeitschr. f. Vetk. 1916, Heft 2.
6. Schnürer, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1910, Nr. 4 und Nr. 12.
7. Schreiber und Stickdorn, ebenda 1916, Nr. 47.
8. Malm, 8. Internat. Tierärztl. Kongreß in Budapest 1905.
9. Hutyra und Marek, Spez. Path. u. Therapie d. Haustiere. Jena 1913.
10. Schütz, Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1894, Bd. 20.
11. Drouin, 10. Internat. Tierärztl. Kongreß in London 1914.
12. Teipel, Zeitschr. f. Vetk. 1918, H. 11.
13. Pfeiler und Scheffler, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1914, Nr. 49.
14. Marek, Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1916, Nr. 1.
15. Sustmann, Dissertation, Zürich 1908.
16. Mießner, Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1908, Bd. 34.
17. Mießner u. Trapp, Zentralbl. f. Bakt. usw. Origin. 1909, Bd. 52.
18. Pfeiler, Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1909, Nr. 35.
19. Zurkan, Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. d. Haustiere 1911, Bd. 10.
20. Marcis, Allat. Lapok 1912 (ungar.), zitiert nach Marek.
21. Reinhardt, Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. der Haustiere 1913, Bd. 13.
22. Pfeiler u. Weber, ebenda 1914, Bd. 15.
23. Kranich, Zeitschr. f. Vetk. 1915, H. 12.
24. Fröhner, Vorlesungen.
25. Müller, Gaethgens u. Aoki, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap. 1911, Bd. 8.
26. Marioth, Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1913, Bd. 24.
27. Mießner, Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1915, Nr. 27.
28. Bach, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1915, Nr. 27.
29. Bongert, Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1916, Bd. 29.
30. v. Pirquet, Handb. d. Techn. d. Immunitätsf. Jena 1910.

31. Calmette, Annal. de l'Inst. Pasteur 1907, Bd. 21 und 1908, Bd. 22.
32. Wolff-Eisner, Handb. d. Serumtherapie, Leipzig 1910.
33. Fröhner, Monatsh. f. prakt. Tierheilk. 1912, Heft 1.
34. Derselbe, ebenda 1912, Heft 10/11.
35. Derselbe, ebenda 1917, Bd. 28.
36. Gruber und Durham, Münch. med. Wochenschr. 1896, Nr. 9.
37. Schütz und Mießner, Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1905, Bd. 31.
38. Kleine, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 1903, Bd. 44.
39. Müller, M., Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1898, Bd. 34.
40. Pfeiler, Archiv f. wissenschaftl. und prakt. Tierheilk. 1908, Bd. 34.
41. Dedjulin, Bote für öffentl. Veterinärwesen 1900 (russisch), zitiert nach Pfeiler.
42. Wladimiroff, Kolle und Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 1913, 2. Aufl., 5. Bd.
43. Shirnoff, zitiert nach Wladimiroff.
44. Bonome, Zentralbl. f. Bakt. usw. Origin. 1905, Bd. 38.
45. Schnürer, Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. der Haustiere 1905, Bd. 1.
46. Pfeiler, Archiv f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1909, Bd. 35.
47. Mießner, Zentralbl. f. Bakt. usw. Origin. 1909, Bd. 48.
48. Pfeiler, Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. d. Haust. 1918, Bd. 19.
49. Bordet u. Gengou, Annal. de l'Inst. Pasteur 1901, Bd. 15.
50. Neißer u. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 44, 1906, Nr. 3.
51. Dieselben, Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 39.
52. Dieselben, Klin. Jahrb. 1908, Bd. 19.
53. Wassermann, Neißer und Bruck, Deutsche med. Wochenschr. 1916, Nr. 19.
54. Schütz u. Schubert, Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1909, Bd. 35.
55. Mießner, Zentralbl. f. Bakt. usw. Origin. 1912, Bd. 64.
56. Ehrlich u. Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1902, Nr. 14, 15, 21.
57. Bordet u. Streng, Zentralbl. f. Bakt. usw. Origin. 1909, Bd. 49.
58. Bordet u. Gay, Annal. de l'Inst. Pasteur 1906, Bd. 25.
59. Pfeiler u. Weber, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1912, Nr. 43.
60. Dieselben, ebenda Nr. 47.
61. Dieselben, Zeitschr. f. Infektionskrankh. usw. d. Haustiere 1912, Bd. 12.
62. Dieselben, Mitteil. d. Kaiser Wilh.-Inst. f. Landw. in Bromberg 1913.
63. Müller, M., Zeitschr. f. Vetk. 1916, H. 9.
64. Pohle, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1917, Nr. 38 u. 39.
65. Waldmann, Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1914, Bd. 40.
66. Derselbe, ebenda 1916, Bd. 42.
67. Schütz u. Waldmann, ebenda 1914, Bd. 40.
68. Pfeiler u. Scheyer, Münch. med. Wochenschr. 1915, Nr. 12.
69. Pfeiler u. Scheffler, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1915, Nr. 11.
70. Kranich u. Kliem, Zeitschr. f. Vetk. 1915, H. 10.
71. Kranich u. Dereser, ebenda 1916, H. 5/6.
72. Meinicke, Berl. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 25.
73. Meinicke u. Bley, Zeitschr. f. Vetk. 1918, H. 3.
74. Meinicke u. Neumann, ebenda 1918, H. 6.
75. Bley, ebenda 1918, H. 7.
76. Zschiesche u. Biermann, ebenda 1917, H. 5.
77. Biermann, ebenda 1917, H. 9.
78. Fontaine u. Lütje, ebenda 1919, H. 1.

Über Pocken bei Ziegen Südwestafrikas.

Von

Regierungsrat **Dr. H. Zeller,**
Mitglied des Reichsgesundheitsamtes.

Am 21. Mai 1914 erhielt ich von dem Regierungstierarzt Dr. Sigwart aus Otjiwarongo in Deutschsüdwestafrika Borkenmaterial von Ziegen zugeschickt. In einem der Sendung beigefügten kurzen Anschreiben vom 20. April 1914 teilte der Einsender Folgendes mit:

„Bei Ziegen meines Bezirks beobachte ich öfters einen eigentümlichen Ausschlag. Es entstehen warzenartige Hautproliferationen in der Maul- und Nasengegend. Sie schwitzen im akuten Stadium eine blutähnliche Flüssigkeit aus, die sich dann unter Zumischung von Staub zu einer schwärzlichen Kruste verhärtet. Nimmt man diese ab, so tritt unter ihr die blutende Lederhaut hervor. Die Krankheit tritt auch bei Sauglämmern auf und springt gelegentlich auf Schafe über. Verlauf meist gutartig. Nach Mitteilung eines Farmers sollen schon Lämmer daran zugrunde gegangen sein. Ich halte die Krankheit im Gegensatz zu Auffassungen von anderer Seite für infektiös. Anbei übersende ich abgenommene Borken in 50%igem Glycerin und bitte, gelegentlich einen Übertragungsversuch auf Ziegen zn machen."

Mit Genehmigung des Herrn Präsidenten und im Einverständnis mit Herrn Direktor von Ostertag konnte ich einige orientierende Versuche mit dem übersandten Borkenmaterial anstellen. Leider mußten dieselben am 1. August 1914 infolge meiner Einberufung zum Heere abgebrochen werden. Nach meiner Rückkehr aus dem Felde am 1. Februar 1919 habe ich aus Mangel an geeigneten Versuchstieren die Arbeit nur noch wenig fördern und ausbauen können, so daß der folgende Bericht im wesentlichen eine Zusammenfassung der in der Zeit vom 21. Mai bis 31. Juli 1914 gewonnenen Untersuchungsergebnisse darstellt.

I. Ursprungsmaterial.

Das in einer braunen Arzneiflasche mit Korkverschluß übersandte Material stellte eine dickliche braunrote Flüssigkeit dar, in der Hautkrusten, Borken und Haare schwammen. Die Krusten und Borken waren bereits stark erweicht.

Im ungefärbten, aus Borkenmaterial hergestellten Quetschpräparat sah man bei schwacher Vergrößerung Schollen, Zelldetritus, Haare, Schmutzpartikel, aber keine Spuren von Hautparasiten. Im gefärbten Präparat war bei stärkerer Vergrößerung weitgehend maceriertes Zellmaterial zu erkennen, das zumeist aus mehr oder weniger stark zerfallenen Epithelzellen sowie Zellkernen ohne Protoplasmaleib bestand; dazwischen fanden sich viele Bakterien, vorwiegend einzeln liegende kokkenähnliche Formen, auch Semmelformen, in geringerer Zahl plumpe Stäbchen.

Von dem Glycerin-Borkenmaterial wurden linsengroße Stückchen in mehrere Röhrchen mit gewöhnlicher Peptonbouillon eingebracht. Nach 24 stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° C waren sämtliche Röhrchen stark diffus getrübt; auf der Oberfläche hatte sich ein zartes Häutchen gebildet. Im hängenden Tropfen und im Dunkelfeld sah man einzeln und in Haufen zusammenliegende Kokken, koliähnliche unbewegliche Stäbchen in geringer, plumpe, lebhaft bewegliche z. T. sporentragende Stäbchen mit abgerundeten Enden in größerer Zahl.

Auf Agar- und Gelatineplatten, die aus dem Ursprungsmaterial angelegt waren, gingen hauptsächlich runde hirsekorn- bis stecknadelkopfgroße, milchweiße saftige Kolonien auf. Sie bestanden aus gelatineverflüssigenden, grampositiven Kokken (Staphylococcus pyogenes albus). Zwischen den Kokkenkolonien befanden sich einzelne kleine grauweißliche glänzende, die Gelatine ebenfalls zur Verflüssigung bringende Kolonien des Bac. subtilis.

Mit den aus dem Ursprungsmaterial gewonnenen Bouillonkulturen wurden eine erwachsene Ziege und deren 5½ Monate altes Lamm[1]) in der Weise zu infizieren versucht, daß beiden nach leichter Skarifikation der Nasen-, Ober- und Unterlippengegend die Kulturen mit steriler Pinzette und Wattebausch kräftig eingerieben wurden. Schon nach wenigen Tagen waren die Skarifikationsschnitte glatt abgeheilt, ohne daß eine sichtbare entzündliche Reaktion eingetreten wäre. Auch in der folgenden 14 tägigen Beobachtungszeit traten bei beiden Ziegen keinerlei Veränderungen an den Infektionsstellen oder am übrigen Körper auf. — Eine dritte Ziege wurde hinter der linken Schulter enthaart, oberflächlich skarifiziert und mit aus dem Ursprungsmaterial gezüchteten Staphylokokken-Agarkulturen eingerieben. In den folgenden Tagen entwickelten sich auf der Haut längs und in der Umgebung der Ritzstellen zahlreiche hirsekorn- bis linsengroße graurötliche Eiterherdchen, die rasch abblaßten, vertrockneten und abschilferten, ohne irgendwelche Veränderungen auf der Haut zu hinterlassen oder sich weiter am Körper auszubreiten.

II. Übertragung der Krankheit.

1. Übertragungsversuche auf Ziegen.

a) Übertragung nach Anritzung der Lippen und der Nase.

Zur Feststellung der Wirkung des Glycerins, in dem das übersandte Borkenmaterial konserviert gewesen war, wurden zunächst eine erwachsene Ziege und ein

---

[1]) Die zu den Infektionsversuchen verwendeten Ziegen- und Schaflämmer standen durchweg im Alter von 4—6 Monaten.

Ziegenlamm nach oberflächlicher Anritzung der Nase und der Lippen mit reinem 50%igem Glycerin eingerieben. Bei beiden Tieren heilten die Ritzstellen in wenigen Tagen reaktionslos ab.

Am 23. Mai 1914 ist mit dem aus Afrika übersandten Borkenmaterial der erste Übertragungsversuch an einer Mutterziege Nr. 13 und ihrem Lamm Nr. 13a in der Weise ausgeführt worden, daß beiden Tieren nach leichter unblutiger Anritzung der äußeren Lippen und Nase der im Mörser zu einer gleichmäßigen dickbreiigen Masse zerriebene Glycerinborkenbrei mittels eines Wattebauschs eingerieben wurde. Die Tiere leckten die eingeriebenen Gesichtspartien alsbald sauber ab.

Ich gebe im folgenden kurz den Infektionsverlauf bei beiden Ziegen wieder.

Mutterziege Nr. 13.

23. 5.: Infektion.

24. 5.: Keinerlei Veränderungen. Die künstlich gesetzten oberflächlichen Hautritzungen an Lippen und Nase sind nicht zu erkennen.

25. 5.: Wie gestern.

26. 5.: Mäßig starke entzündliche Rötung der Ritzstellen an Lippen und Nase.

27. 5.: Ritzstellen an Lippen und Nase hochrot, vermehrt warm, mit etwas ausgeschwitztem gelblichem zähklebrigem Sekret und spärlichen trockenen braungelben Börkchen belegt.

28. 5.: Ausbreitung der entzündlichen Rötung an Lippen und Nase; Zunahme der Borken auf den Ritzstellen. In beiden Nasenöffnungen schwärzliche Krusten. Auf der Maulschleimhaut keine Veränderungen.

29. 5.: Weitere starke Ausbreitung der entzündlichen Rötung an Lippen und Nase; erstere erheblich geschwollen. Starke Vermehrung und Verdickung der Borken auf den Ritzstellen. In beiden Maulwinkeln an der Grenze von äußerer Haut und Schleimhaut spontanes Auftreten hirsekorn- bis linsengroßer hochroter Entzündungsherdchen.

30. 5.: Rückgang der entzündlichen Rötung an Lippen und Nase; starke Schwellung der Lippen besteht fort. Weitere Vermehrung und Vergrößerung der Borken; Ausbreitung derselben über die ganze äußere Lippen- und Nasenfläche. Zwischen den Borken bilden sich tiefe Risse, aus denen ein bernsteingelbes, leicht rötlich gefärbtes Sekret hervordringt. Die gestern in den beiden Maulwinkeln beobachteten hochroten Entzündungsherdchen haben sich mit feinen gelbbraunen Börkchen bedeckt. Auf der Zungenoberfläche zerstreut 8 stecknadelkopfgroße hochrote erhabene Herdchen, teilweise mit gelblichem Pünktchen in der Mitte. Je ein linsengroßer rundlicher Schleimhautdefekt mit hochrotem Grunde am Vorderrand des Unterkiefers in der Nähe der Schneidezähne und neben dem Ansatz des Zungenbändchens. — Um neues Infektionsmaterial zu erhalten, wurde ein Teil der Borken abgenommen. Sie saßen an Lippen und Nase noch ziemlich fest, so daß sich bei ihrer Abnahme eine reichliche Blutung einstellte. Nach Entfernung der Borken trat ein gelblichweißer eitriger Belag und unter ihm eine hellrote, sich stark hervordrängende Granulationsfläche zutage. Die abgenommenen Borken waren z. T. über $^{1}/_{2}$ cm dick, hart, graubraun, mit abgestoßenen Haaren durchsetzt. Leichter ließen sich die mehr flachen, schwärzlichen Krusten am Eingang der Nasenöffnungen abheben; auch unter diesen Krusten lag eine mit gelblichen eitrigen Massen fein bedeckte fleischrote Geschwürsfläche.

31. 5.: Die Lippen- und Nasenflächen, von denen gestern Borken abgenommen wurden, haben sich erneut mit starken Borken und Krusten bedeckt. Die Entzündungsherdchen in den Maulwinkeln sind abgeblaßt und tragen bereits in der Mitte hanfkorn- bis linsengroße braune Borken. Auf der Zunge stecknadelkopf- bis hanfkorngroße rote Herdchen in großer Zahl. Euteroberfläche bedeckt mit vielen stecknadelkopf- bis fast pfennigstückgroßen rundlichen, peripher ziemlich scharf abgegrenzten, leicht erhabenen roten Flecken; sie sitzen am dichtesten an den

beiden Zitzen. Die Übertragung auf das Euter erfolgte wahrscheinlich durch das ebenfalls infizierte, mit der Mutter in derselben Boxe befindliche und häufig am Euter saugende Lamm Nr. 13a.

1. 6.: Am harten Gaumen und auf dem Maulhöhlenboden sind einzelne, bis linsengroße, z. T. bereits der Schleimhaut beraubte hochrote Herdchen aufgetreten.

2. 6.: Vermehrung und Vergrößerung der entzündlich veränderten Herdchen auf der Maulschleimhaut. Behinderung bei der Futteraufnahme. Zeitweilig starkes Speicheln. Herdchen auf der Euteroberfläche blässer aber höher geworden, teils gelblichweiß, etwas durchscheinend, mit rötlicher Randzone, teils mit dünnen, bräunlichgelben Schorfen bedeckt.

3. 6.: Papillen der Maulschleimhaut in der Gegend der Maulwinkel teils unverändert, teils hochrot, stark vergrößert, wie gebläht aussehend. Am vorderen äußeren Alveolarrand des Unterkiefers zwei über linsengroße, hochrote, scharf umschriebene Schleimhautdefekte, die von innen heraus warzenartig zu wuchern scheinen.

4. 6.: Links vom Zungenwulst auf pfennigstückgroßem Grund aufsitzend eine dunkelrosafarbene, beetartige Wucherung. Auf dem harten Gaumen zahlreiche linsen- bis bohnengroße, scharf umschriebene hochrote Schleimhautdefekte. Die vor 4 Tagen auf der Zunge beobachteten zahlreichen bis hanfkorngroßen roten Herdchen sind zum größeren Teil bereits abgeblaßt und im Verschwinden begriffen.

5. 6.: Die entzündlichen Erscheinungen an Lippen und Nase gehen zurück. Da und dort beginnen die aufsitzenden Borken, sich spontan zu lösen und abzufallen; unter ihnen tritt intakte neugebildete blaßrote Haut zutage. Früher pigmentiert gewesene Hautstellen sind jetzt pigmentlos geworden. Auf den peripher noch leicht geröteten Herden am Euter sitzen allerwärts gelblichbraune, bis 5 mm hohe trockene Borken. Die Zitzen sind bis etwa 2 cm von den Zitzenöffnungen aufwärts ringsum dick mit starken Borken bedeckt. Durch das Saugen des Lammes, gegen das sich die Mutter so viel wie möglich wehrt, werden die Borken immer wieder abgerissen, so daß stets ein Reiz für erneute Borkenbildung besteht.

6. 6.: Die beiden Schleimhautdefekte am vorderen äußeren Alveolarrand haben sich zu warzenartigen Wucherungen ausgebildet, die, mit breiter Basis der Schleimhaut aufsitzend, die Höhe der Schneidezähne erreichen. Die beetartige Wucherung links vom Zungenwulst ist etwas höher, aber nicht breiter geworden.

7. 6.: Seit heute gehen die entzündlichen Erscheinungen im Innern der Maulhöhle deutlich zurück. Die Ziege läßt das Lamm nimmer an das Euter, da ihr das Saugen Schmerzen bereitet. Die weiter oben am Euter haftenden Borken beginnen abzufallen; unter ihnen tritt blaßrote intakte Haut zutage. Spuren von Narbenbildung sind nicht zu erkennen.

8. 6.: Euter prall gefüllt, Ausgang der Strichkanäle durch Borken verlegt. Nach künstlicher Eröffnung Entleerung des Euters durch das Lamm, wobei die Ziege festgehalten werden muß. Durch das Saugen aufs neue sämtliche Borken an den Zitzen abgerissen.

9. 6.: Borken an Lippen und Nase trocknen ein und fallen allmählich ab. Entzündliche Herde auf der Maulschleimhaut durchweg stark abgeblaßt.

10.—11. 6.: An Lippen und Nase nur noch wenige lose anhängende Borken. Auch an den Zitzen beginnen die Borken, sich spontan zu lösen.

12.—13. 6.: Die kleineren entzündlichen Herde auf der Maulschleimhaut sind fast ganz verschwunden; die beetartige und die beiden warzenartigen Wucherungen sind in Rückbildung begriffen.

14. 6.: Lippen und Nase vollständig borkenfrei; Haut dieser Teile intakt, mit Haaren versehen.

15.—16. 6.: Auch die letzten Borken an den Zitzen abgefallen; einige kleine höckerige Narben sind zurückgeblieben. Zu einer sicher feststellbaren Vergrößerung der supramammären Lymphknoten oder zu klinisch erkennbaren Veränderungen am Euter ist es nicht gekommen.

17\. 6.: Auf der Maulschleimhaut sind sämtliche Krankheitserscheinungen verschwunden. Die Ziege ist damit vollständig wiederhergestellt. Im Nährzustand ist sie zurückgegangen, da die schmerzhaften Veränderungen am und im Maul ihr eine zeitlang die Futteraufnahme ziemlich erschwerten. Eigentliche Fiebertemperaturen sind während des ganzen Krankheitsverlaufes nicht beobachtet worden; die Körperwärme war lediglich während einiger Tage hochnormal.

Ziegenlamm Nr. 13a.

23\. 5.: Infektion.

24\. 5.: Keinerlei Veränderungen. Die künstlich gesetzten oberflächlichen Hautritzungen an Lippen und Nase sind nicht zu erkennen.

25\. 5.: Ritzstellen an der Nase leicht entzündlich gerötet.

26\. 5.: Ritzstellen an Nase und Lippen stark entzündlich gerötet.

27\. 5.: Ritzstellen an Nase und Lippen hochrot, heiß, stellenweise mit etwas ausgeschwitztem gelblichem Sekret belegt, das rasch zu gelblichbraunen Börkchen eintrocknet. Auf der Maulschleimhaut keine Veränderungen. Temperatur hochnormal.

28\. 5.: Lippen leicht geschwollen. In beiden Maulwinkeln an der Grenze von äußerer Haut und Schleimhaut einzelne punktförmige bis hirsekorngroße hochrote Stippchen.

29\. 5.: Die entzündliche Rötung hat sich von den Ritzstellen aus über Nase und Lippen diffus verbreitet. Lippen erheblich, Nase leicht geschwollen. Borken auf den Ritzstellen vergrößert und vermehrt.

30\. 5.: Entzündliche Rötung an Nase und Lippen etwas zurückgegangen, Borkenbildung in weiterer Zunahme begriffen. Auf der Zungenoberfläche einige hirsekorngroße hochrote Herdchen.

31\. 5.: Die Stippchen in den Maulwinkeln haben sich zu stecknadelkopfgroßen roten Knötchen weiterentwickelt, einzelne haben sich in hanfkorngroße Bläschen mit gelblichweißem eitrigem Inhalt umgewandelt. In den Maulwinkeln viel schaumiger Speichel. Mittelgradiges Fieber.

1\. 6.: Weitere Vermehrung und Verdickung der Borken; Ausbreitung derselben fast über die ganze äußere Nasen- und Lippenfläche. Entzündliche Herdchen auf der Zunge vergrößert und bedeutend vermehrt. Über die ganze Maulschleimhaut zerstreut sind hirsekorn- bis stecknadelkopfgroße rote Entzündungsherdchen aufgetreten.

2\. 6.: In beiden Maulwinkeln hat starke Borkenbildung eingesetzt. Das Lamm speichelt viel. Die Futteraufnahme ist erschwert und mit Schmerzen verbunden. Weitere Zunahme der Fiebertemperatur.

3\. 6.: Zahlreiche Papillen der Maulschleimhaut in der Nähe der Maulwinkel um das 2—4 fache vergrößert, wie gebläht aussehend, hochrot. Am rechten oberen Augenbogen eine linsengroße, entzündlich gerötete Hautstelle.

4\. 6.: Nase und Lippen mit sehr dicken rissigen Borken belegt (Fig. 1); in den Borkenrissen reichliche Ausschwitzung von rötlich-gelbem, entzündlichem Exsudat, das seinerseits wieder schnell zu Borken eintrocknet. Lippen besonders nach innen zu hochgradig verdickt. Die Oberlippenschleimhaut ist entlang dem Lippenrand auf 1—2 cm Breite in eine üppig granulierende, wulstig hervortretende, leicht blutende Fläche umgewandelt. Die zahlreichen, überall auf der Maulschleimhaut zerstreut liegenden entzündlichen Herdchen haben sich vergrößert und teilweise ihres Epithels entäußert; statt dessen erscheinen sie mit einem weißlich-gelben eiterähnlichen dünnen Belag bedeckt. Einzelne der größeren Herdchen auf Zunge, Lippeninnenseite und Unterkieferrand zeigen von innen heraus beginnende warzenartige Wucherung. Die am harten Gaumen aufgetretenen Wucherungen sind mehr zarter, faseriger Natur. Am Grund der rechten Ohrmuschel mehrere rundliche, bis linsengroße, entzündlich gerötete Hautstellen; das Herdchen am rechten oberen Augenbogen hat sich bereits mit einem dünnen, gelbbräunlichen Schorf bedeckt.

5\. 6.: Auf der Haut der ganzen Körperoberfläche zerstreut, insbesondere dicht gedrängt an Hals, Seiten- und Unterbrust sowie in der rechten Ellbogenbeuge, sehr zahlreiche unscharf begrenzte, punktförmige bis hirsekorngroße, rote, leicht über die Oberfläche sich erhebende entzündliche Herdchen. Hochgradiges Fieber. Tier sehr matt und traurig; Nahrungsaufnahme sehr erschwert, fast gleich Null.



Fig. 1.
Ziegenlamm Nr. 13a auf dem Höhepunkt der Krankheit am 4. 6. 14.

6\. 6.: Ober- und Unterlippen besonders seitlich sehr stark hervorgewulstet infolge der vorgeschrittenen entzündlichen Erscheinungen an den Lippeninnenseiten. Vorderer Teil der Unterlippe hängt wie gelähmt herab; auf der dadurch sichtbar werdenden Maulschleimhaut erkennt man zahlreiche größere, des Epithels beraubte, scharf umschriebene Stellen, die teils hochrot erscheinen, teils mit einem weißlichgelben dünnen Belag bedeckt sind. Die warzenförmigen Wucherungen auf der Maulschleimhaut haben Erbsen- und Bohnengröße erreicht.

7\. 6.: Von den auf der allgemeinen Decke zerstreut liegenden entzündlichen Herdchen haben einzelne Linsen- und Pfennigstückgröße erreicht; viele sind bereits blässer geworden und haben sich mit dünnen bräunlichen Schorfen bedeckt. An der Hinterschenkelinnenfläche und am Bauch hat sich die Zahl der Herdchen erheblich vermehrt; sie haben hier meist Bläschenform angenommen und erscheinen mit gelbweißem Eiter angefüllt. Fieber geht seit heute zurück.



Fig. 2.
Ziegenlamm Nr. 13a nach erfolgter Abheilung am 15. 6. 14.

8\. 6.: Die ersten Borken an Lippen und Nase beginnen, sich spontan zu lösen. Die entzündlichen Veränderungen auf der Maulschleimhaut scheinen ihren Höhepunkt überschritten zu haben. Weiterer Rückgang der Fiebertemperatur.

9\. 6.: Wo an Lippen und Nase die ersten Borken abgefallen sind, tritt die neugebildete, intakte, mit Haaren versehene Haut zutage. Nirgends eine Spur von Nekrose.

Die Herdchen auf der Haut verblassen zusehends, ihre Schorfe schilfern ab. Die entzündlichen Erscheinungen in der Maulhöhle sind stark zurückgegangen; von den kleineren Einzelherdchen sind viele bereits verschwunden. Temperatur wieder normal. Futteraufnahme gebessert.

10. 6.: Schwellung der Lippen stark zurückgegangen. Lamm wieder wesentlich munterer.

11.—12. 6.: Borken von Lippen und Nase lösen sich weiter ab. Herdchen auf der allgemeinen Decke ganz verschwunden. Auf der Maulschleimhaut auch die größeren Herdchen abgeblaßt und stark in Rückbildung begriffen.

13.—14. 6.: Nur noch wenige Borken den Lippen lose anhängend; Nase borkenfrei.

15. 6.: Lippen vollständig borkenfrei, überall intakte Haut mit Haaren (Fig. 2).

16. 6.: Die letzten Reste der entzündlichen Veränderungen auf der Maulschleimhaut sind vollständig verschwunden. Das Lamm erscheint wieder gesund. Im Nährzustand ist das Tier stark zurückgegangen. Durchfall hat während der Krankheit nie bestanden.

Späterhin ist noch eine Reihe von erwachsenen Ziegen und Ziegenlämmern mit infektiösem Borkenmaterial auf dieselbe oder ähnliche Weise infiziert worden. Das klinische Krankheitsbild war kurz zusammengefaßt etwa folgendes:

Am 1. Tage nach der Infektion waren die Ritzstellen an Lippen und Nase vollständig reaktionslos. Am 2. Tage begannen sich bei den Ziegenlämmern, am 3. bei den erwachsenen Ziegen die Ritzstellen und ihre nächste Umgebung entzündlich zu röten. In den folgenden 24—48 Stunden nahm die Rötung an Stärke zu, Schwellung an Lippen und Nase setzte ein, die Ritzstellen schwitzten ein gelbliches Sekret aus, das rasch zähklebrig wurde und zu gelblichbraunen Börkchen eintrocknete. Unter Zunahme und diffuser Ausbreitung der Entzündungserscheinungen an Lippen und Nase kam es zu einer raschen Vermehrung und Verdickung der Borken auf den Ritzstellen. Am 8.—12. Tage nach der Infektion hatte die Borkenbildung auf Lippen und Nase in der Regel ihre größte Mächtigkeit erreicht; bei einigen Ziegenlämmern waren die Naseneingänge durch Borken fast vollständig verlegt. Zwischen den Borken bildeten sich tiefe Risse, auf deren Grund eine reichliche Absonderung von rötlichgelbem, entzündlichem Sekret erfolgte, das seinerseits wieder schnell zu Borken eintrocknete.

Bei den jungen Tieren am 5., bei den erwachsenen am 6.—7. Tage traten in den Maulwinkeln an der Grenze von äußerer Haut und Schleimhaut flohstichähnliche hochrote Stippchen auf, die sich rasch zu stecknadelkopf- bis linsengroßen, über die Oberfläche leicht erhabenen Herdchen vergrößerten. Auf einem Teil dieser Herdchen bildeten sich Borken, die in den folgenden Tagen stark an Größe zunahmen und sich weiter ausbreiteten. Hob man zur Zeit ihrer mächtigsten Entwicklung einzelne Borken ab, so trat unter ihnen eine leicht blutende, mit gelbweißem Eiter in dünner Schicht bedeckte, üppig granulierende Fläche zutage. Aus einem anderen Teil der entzündlichen Herdchen gingen hanfkorngroße Bläschen mit gelblichweißem eitrigem Inhalt hervor, an deren Stelle nach wenigen Tagen ebenfalls braungelbe Borken traten.

Bei den erwachsenen Ziegen begannen etwa vom 12., bei den Lämmern vom 16. Krankheitstage ab die Borken an Lippen und Nase sich zu lösen und abzufallen. Wo sie abgefallen waren, trat frische rosafarbene, mit kurzen Haaren versehene intakte Haut zutage. Veränderungen nekrotischer Natur sind nie beobachtet worden.

Nur etwa früher in der Haut vorhanden gewesenes Pigment ist stets verloren gegangen, so daß sämtliche schwarzen Versuchsziegen nach Ablauf der Infektion weiße oder mindestens weißgescheckte Lippen und Nasen aufwiesen.

Fast gleichzeitig mit dem Auftreten der Stippchen in den Maulwinkeln oder 1 bis 2 Tage später waren hochrote, gegen die Umgebung scharf abgegrenzte entzündliche Herdchen auch an den verschiedensten Stellen der Maulschleimhaut zu erkennen. Die Tiere begannen vermehrt zu speicheln; besonders in den Maulwinkeln saß stets ziemlich viel weißer kleinblasiger Speichel. Ein Teil der kegelförmigen Schleimhautpapillen auf den Lippeninnenseiten begann sich hauptsächlich in der Gegend der Maulwinkel stark zu röten; innerhalb von 1 bis 2 Tagen vergrößerten sich die Papillen um das zwei- bis vierfache und sahen prall gebläht aus. Die entzündlichen Herdchen auf der Maulschleimhaut waren erst punktförmig bis stecknadelkopfgroß; einige von ihnen erreichten bald Linsen- und Pfennigstückgröße. Sie erhoben sich flach über die Schleimhaut. Ihre ursprünglich hochrote Farbe wich innerhalb weniger Tage einem Gelblichweiß, das sich von dem Hellrosa der normalen Maulschleimhaut deutlich abhob. Dieses Stadium währte kaum einen Tag. Dann wurde die Oberflächenschicht abgestoßen und es trat ein dunkelrosafarbener, flacher, scharf umrandeter Defekt zutage, der sich nicht weiter ausbreitete und häufig mit einem dünnen gelblichweißen, eitrigen Belag bedeckt war. Nach einiger Zeit begann vom Rande aus das Epithel über den Defekt herzuwachsen und 5 bis 8 Tage später, je nach Größe, war der Defekt ohne Hinterlassung einer makroskopisch erkennbaren Narbe verschwunden.

Andere entzündliche Herde der Maulschleimhaut begannen nach Abstoßung ihrer Oberflächenschicht aus der Mitte heraus zu wuchern und papillomartige Neubildungen hervorzubringen, die bis zur Größe einer Erbse und Bohne, ja selbst einer Haselnuß heranwuchsen. Auf der Innenseite der Ober- und Unterlippe sowie am Unterkiefer waren diese Neubildungen mehr grob, warzenartig, auf der Zungenschleimhaut und dem harten Gaumen entstanden dagegen mehr flache, beetartig ausgebreitete, samtähnliche oder fadenförmige Wucherungen. Auch diese papillomatösen Neubildungen zeigten keine Neigung, sich weiter auszubreiten, bildeten sich vielmehr ebenfalls rasch zurück und waren in 10 bis 12 Tagen ohne Hinterlassung irgendwelcher Defekte in der Schleimhaut verschwunden.

Besonders stark waren hauptsächlich bei den Ziegenlämmern die Schleimhautveränderungen an der Innenseite der hochgradig geschwollenen, außen mit massigen Borken dicht belegten Lippen. Hier bildeten sich entlang dem Lippenrand in Breite von 1—2 cm wulstig nach innen hervortretende, üppig granulierende, blumenkohlähnliche Flächenwucherungen aus, die stellenweise mit feinen gelblichweißen Belägen bedeckt waren, bei Berührung sehr leicht bluteten und den Tieren durch Abdrängen der Lippen von den Kiefern häufig einen ganz veränderten Gesichtsausdruck verliehen. Trotz ihrer mächtigen Entwicklung begannen auch diese Wucherungen etwa vom 16. Krankheitstage an auffallend rasch und ohne Defekt- oder Narbenbildung abzuheilen. Ebenso wie auf der Haut, so sind auch auf der Schleimhaut irgendwelche Veränderungen geschwüriger oder nekrotischer Art nie beobachtet worden.

Vom 10. bis 12. Krankheitstage ab traten bei vier Ziegenlämmern und zwei erwachsenen Ziegen auf der allgemeinen Körperoberfläche hirsekorn- bis fast pfennigstückgroße, unscharf begrenzte, über die Oberfläche sich leicht erhebende rote Herdchen in mäßiger Zahl auf, die hauptsächlich um die Augen, am Grund der Ohren und an der ventralen Halspartie ihren Sitz hatten. Sie bedeckten sich bald mit dünnen gelbbraunen Schorfen, die rasch eintrockneten und nach wenigen Tagen abfielen, ohne einen makroskopisch erkennbaren Hautdefekt zu hinterlassen.

Bei mehreren Ziegenlämmern trat etwa am 12. Krankheitstag ein über die ganze Körperoberfläche verbreitetes Exanthem auf in Form zahlloser punktförmiger bis hirsekorngroßer, hochroter, leicht über die Oberfläche sich erhebender, unscharf begrenzter Herdchen, die besonders dicht gedrängt an Hals, Vorder- und Seitenbrust, am Bauch und an den Schenkelinnenflächen saßen. Sie wandelten sich, was besonders schön bei den am Bauch und an den Schenkelinnenflächen sitzenden Herdchen zu verfolgen war, in gelbweißen Eiter führende Bläschen um, die dann zu gelbbraunen Borken eintrockneten und im Verlauf weniger Tage abfielen, ohne makroskopisch erkennbare Residuen auf der Haut zu hinterlassen.



Fig. 3.
Pockenähnliche Veränderungen am Euter einer Ziege.

Bei milchenden Mutterziegen erschienen vom 6. bis 7. Krankheitstage an auf der Euteroberfläche hirsekorn- bis fast pfennigstückgroße rundliche, peripher ziemlich scharf abgegrenzte, leicht über die Oberfläche sich erhebende rote Herdchen. Sie saßen insbesondere an den beiden Zitzen, am dichtesten an deren spitzem Ende (Fig. 3). In den folgenden Tagen traten die Herdchen stärker über die Oberfläche hervor und bedeckten sich rasch mit bräunlichen Borken, die eine Dicke von 5 mm und mehr erreichten. Suchte man diese einige Tage später abzuheben, so trat eine mit gelbweißem Eiter bedeckte, fleischrote geschwürige Fläche zutage. Vereinzelt ist auch, besonders in der oberen Euterhälfte, das Auftreten gelbweißer, mit Eiter gefüllter, teilweise mit rotem Hof umgebener Bläschen beobachtet worden, die nach zwei- bis dreitägigem Bestehen zu kleinen gelblichen, rasch abfallenden Borken eintrockneten. Im Bereiche der Zitzen entstanden gewöhnlich die größten und stärksten Borken, die

am Zitzenende häufig konfluierten und bei einer Ziege beiderseits die Strichkanäle verlegten, so daß deren künstliche Eröffnung notwendig wurde. Bei zwei Ziegen, denen von ihren Lämmern die Borken an den Zitzen beim Saugen mehrfach abgerissen worden waren, sind nach spontanem Abfallen der letzten Borken einige kleine höckerige Narben an den Zitzen zurückgeblieben. Zu einer stärkeren Schwellung des Euters oder einer deutlich feststellbaren Vergrößerung der supramammären Lymphknoten kam es in der Regel nicht. Dagegen griff bei zwei Ziegen der Krankheitsprozeß auch auf die äußeren Schamlippen und die ventrale Schwanzfläche über, wo es ebenfalls zur Entstehung entzündlicher Herdchen, eiterführender Bläschen und starker Borkenbildung gekommen ist.

Während des Krankheitsverlaufs zeigten die erwachsenen Ziegen meist nur geringe Fiebertemperaturen; bei einem Tier mit allgemeinem Hautexanthem wurde mittelgradiges Fieber festgestellt, zwei Tiere blieben ganz fieberfrei. Das Allgemeinbefinden war nicht wesentlich gestört. Die Ziegenlämmer dagegen sind alle hochfieberhaft erkrankt. Das Fieber setzte bei ihnen zumeist mit dem Auftreten der ersten Stippchen in den Maulwinkeln oder der ersten entzündlichen Herdchen auf der Maulschleimhaut ein und begann zu fallen, sobald die Krankheitserscheinungen ihren Höhepunkt erreicht hatten. Während der Fiebertage zeigten die Lämmer große Mattigkeit und versagten die Futteraufnahme fast ganz. Durchfälle sind nie beobachtet worden.

Überhaupt ist der Krankheitsverlauf bei den Lämmern durchweg viel schwerer gewesen, als bei den erwachsenen Ziegen. Die ersten Entzündungserscheinungen traten bei ihnen um einen Tag früher auf, die Veränderungen an Lippen, Nase und auf der Maulschleimhaut waren hochgradiger und bestanden um einige Tage länger, insbesondere kam es bei den Lämmern auch mehr zu den papillomatösen Wucherungen auf der Maulschleimhaut und fast regelmäßig zum Auftreten von Hautexanthemen, die bei den erwachsenen Tieren zumeist fehlten. Vorübergehender serös-schleimiger Augen- und Nasenausfluß wurde in einzelnen Fällen beobachtet. Im Nährzustand gingen die Lämmer während der Krankheit erheblich, die erwachsenen Ziegen kaum merklich zurück. Die Krankheitsdauer ist aber trotz der schweren klinischen Krankheitserscheinungen bei den Lämmern kaum länger gewesen, als bei den erwachsenen Tieren: bei beiden waren nach 24—28 Tagen ($3^1/_2$—4 Wochen) die letzten Veränderungen auf der Maulschleimhaut verschwunden und die letzten Borken von Lippen, Nase und äußerer Haut abgefallen; die Tiere waren damit vollständig wiederhergestellt. Zum tödlichen Ausgang ist es bei keinem Versuchstier gekommen. Ich bin indessen der Meinung, daß, falls an Stelle meiner 4—6 Monate alten Ziegenlämmer 4—6 Wochen alte Tiere dieser Art zu den Versuchen hätten herangezogen werden können, Todesfälle durch die Infektion mit großer Wahrscheinlichkeit zu verzeichnen gewesen wären.

b) Übertragung nach Anritzung der Schulter- und Rückenhaut.

Um zu ermitteln, ob der Ansteckungsstoff außer an Lippen und Nase auch an anderen Stellen der Körperoberfläche hafte, wurden bei vier Ziegen rückwärts von der Schulter rechterseits ein, linkerseits zwei handtellergroße Hautpartien mit Calcium-

hydrosulfid enthaart und daraufhin oberflächlich geritzt. Von den beiden so vorbereiteten Stellen auf der linken Körperseite blieb die eine unbehandelt, die andere wurde mit Kulturen verschiedener Kokken bestrichen, die bei erkrankten Tieren aus dem in Bläschen und unter Borken befindlichen Eiter isoliert worden waren. Die Stelle auf der rechten Körperseite wurde mit zerquetschtem infektiösem Borkenmaterial eingerieben.

Die unbehandelten Stellen blieben reaktionslos, ohne jegliche Entzündungserscheinungen.

Die Ritze der mit Kokkenmaterial bestrichenen Hautstellen waren bereits nach 24 Stunden hoch gerötet und fühlten sich heiß an. Nach 48 Stunden blaßte die Rötung etwas ab; den Ritzen entlang sah man kleine gelblichweiße Eiterherdchen entstehen, die sich bis zum 3. Tage vergrößerten. Am 4. Tage war die Rötung weiter zurückgegangen, die Eiterherdchen trockneten ein und fielen als kleine Borken in den nächsten Tagen spontan ab. Am 7. Tage war vollständige Heilung eingetreten.



Fig. 4.
Ziegenlamm, kutan hinter der rechten Schulter infiziert. Ansteckung am Maul durch Knabbern an der Impfstelle.

An denjenigen Hautpartien, die mit zerquetschtem infektiösem Borkenmaterial eingerieben worden waren, hatte sich nach 24 Stunden um die Ritzstellen eine breite rote entzündliche Zone gebildet. Am 2. Tage wurde die Zone schmäler, die Rötung aber intensiver; die Ritze selbst bedeckte ein feiner, bräunlichgelber Schorf. In den folgenden Tagen schritt die Entzündung weiter vor: die Ritze samt ihrer Umgebung waren hochrot geschwollen und fühlten sich heiß an; die Borkenbildung nahm täglich zu. — Bei einer Ziege war die Haut fast auf der ganzen enthaarten Stelle diffus gerötet. Entlang den Hautritzen bildeten sich beiderseits gelblichweiße Längswülste aus, die schon nach 2 Tagen zu Borken einzutrocknen begannen. In der weiteren Umgebung der Ritze entstanden spontan 20—30 hirsekorn- bis stecknadelkopfgroße, leicht über die Oberfläche hervortretende Entzündungsherdchen. Aus ihnen gingen nach einigen Tagen gelbweißen Eiter führende, teilweise mit rotem Hof umgebene Bläschen hervor, die später zu braungelben Borken eintrockneten. — Ein Ziegenlamm knabberte sich lebhaft an der entzündeten Hautpartie und infizierte sich auf diese Weise am Maul (Fig. 4); bei ihm bildeten sich auf den Hautritzstellen besonders starke, schwarzrote bis rotbraune Borken aus. — Im allgemeinen hatten 12—14 Tage

nach der Infektion die Hautborken ihre größte Mächtigkeit (bis 6 mm Dicke) erreicht. Von da ab gingen die Entzündungserscheinungen allmählich zurück; die Borken begannen, sich spontan zu lösen und abzufallen, keinerlei Hautdefekte zurücklassend. 3—3½ Wochen nach der Infektion waren die Hautstellen bei allen Ziegen borkenfrei; vollständige Abheilung war eingetreten.

c) Übertragung nach Anritzung der Schamlippen und der Scheidenschleimhaut.

Bei einer Ziege wurden die äußeren Schamlippen sowie die Scheidenschleimhaut nach leichter Anritzung mit infektiöser Borkenemulsion eingerieben. Schon nach 24 Stunden setzten an den Schamlippen akute Entzündungserscheinungen ein; in den nächsten Tagen kam es zur Ausscheidung von gelblichem Sekret aus den Ritzstellen, zur Eintrocknung desselben und zu starker Borkenbildung (Fig. 5). An der unteren Schwanzfläche bildeten sich durch Kontakt mit den infizierten Schamlippen verschiedene bis linsengroße, erhabene, gelbweiße, Eiter führende Bläschen aus, die bald vertrockneten und sich mit Schorfen bedeckten. Ein solches Bläschen entstand auch am Übergang von der äußeren Haut zur Scheidenschleimhaut. Diese selbst zeigte keinerlei Entzündungserscheinungen; die auf ihr gesetzten Ritzstellen waren schon vom 2. Tage ab nicht mehr zu erkennen. Drei Wochen nach der Infektion fielen die letzten Borken von den äußeren Schamlippen und der unteren Schwanzfläche ab.

d) Übertragung durch Einträufeln von infektiösem Material in den Lidsack.

Versuche, durch Einträufeln infektiöser Borkenemulsion in den Lidsack eine Ansteckung hervorzurufen, verliefen bei mehreren Ziegenlämmern und erwachsenen Ziegen negativ. Nur bei einem Tier stellte sich auf wenige Tage ein schleimig-eitriger Augenausfluß ein, der die Entstehung von einigen typisch sich entwickelnden Entzündungsherdchen auf der Kopfhaut unter dem inneren Lidwinkel zur Folge hatte. Am Augapfel selber sind keinerlei Krankheitserscheinungen aufgetreten.

Erwähnt sei hier noch, daß bei einer spontan erkrankten alten Ziege außer den gewöhnlichen Erscheinungen eine entzündliche Schwellung beider Augenlider und ein beiderseitiger schleimig-eitriger Augenausfluß auftraten, wobei es an den Lidrändern, am linken inneren Augenwinkel und auf der Höhe des rechten Augenbogens zu starker Borkenbildung kam. Mit dem Abklingen der Krankheitserscheinungen am und im Maul verschwanden auch die Lidschwellung und der Augenausfluß wieder; die bulbi blieben frei von Veränderungen.

e) Übertragung durch Einreiben von infektiösem Material in die unverletzte Haut.

Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß zur Übertragung der Krankheit eine vorherige Hautritzung nicht notwendig ist. Wurde infektiöse Borkenemulsion Ziegen auf die intakte Haut der Lippen oder auf vorher durch Calciumhydrosulfid enthaarte Stellen der allgemeinen Decke eingerieben, so waren dort nach 2 bis 3 Tagen die ersten roten punktförmigen bis hirsekorngroßen Entzündungsherdchen festzustellen,

die sich in der Folgezeit vergrößerten und mit Borken bedeckten. Von den infizierten Lippen aus verbreitete sich der Krankheitsprozeß weiter auf die Maulschleimhaut. Verlauf und Dauer der Infektion waren dieselben wie bei den Ziegen, deren Haut vor der Ansteckung leicht geritzt worden war.

Blut, das anläßlich der Abtragung frisch gebildeter Borken bei einer auf dem Höhepunkt der Krankheit stehenden jungen Ziege von deren Lippen abtropfte, wurde einem alten Ziegenbock mittels Wattebausches auf die intakte Lippen- und Nasenoberfläche eingerieben. Nach drei Tagen war beiderseits etwa in der Mitte der seitlichen Oberlippen je ein hirsekorngroßes rotes Herdchen festzustellen. Am 5. Tage erschienen die beiden Herdchen bereits linsengroß, gelblichweiß und mit einem dünnen gelbbräunlichen Schorf bedeckt; gleichzeitig zeigten sich im rechten Maulwinkel am Übergang von der äußeren Haut zur Schleimhaut zwei rote Stippchen. In den folgenden Tagen vermehrte sich die Zahl der auf Lippen und Nase hervortretenden Entzündungsherdchen beständig. Am 6. Tage nach der Ansteckung waren auch auf der Maulschleimhaut, insbesondere am harten Gaumen, die ersten entzündlichen Herdchen in Hirsekorn- bis Stecknadelkopfgröße wahrzunehmen. Weiterhin trat starke Schwellung der seitlichen Ober- und Unterlippen ein: sie warfen sich wulstig auf und bedeckten sich außen mit dicken Borken. Die Ausbreitung der Veränderungen auf der Maulschleimhaut war in diesem Falle weniger stark; nur auf der Innenseite der Lippen kam es zu ausgedehnteren, mit Epithelabstoßungen einhergehenden Entzündungserscheinungen. Am 16. Tage nach der Ansteckung war bei dem Ziegenbock der Höhepunkt der Krankheit erreicht, am 28. vollständige Heilung eingetreten. — In Wiederholung des eben beschriebenen Versuchs ist einer jüngeren weiblichen Ziege Blut, das gelegentlich der künstlichen Borkenabnahme bei einer infizierten erwachsenen Ziege zutage trat, auf die intakten Lippen eingerieben worden: sie ist gleichfalls in typischer Weise erkrankt.



Fig. 5.
Pockenähnliche Veränderungen an der Scham und unteren Schwanzfläche einer Ziege.

f) Übertragung durch spontane Ansteckung.

Wurden gesunde Ziegen mit infizierten zusammen in eine Boxe gebracht, so fand regelmäßig eine Übertragung der Krankheit statt. Bei den angesteckten Tieren zeigten sich die ersten Veränderungen nach 6—8 Tagen meist an den Lippen oder auf der Maulschleimhaut; es kam zur weiteren Ausbreitung und Entwicklung des Krankheitsprozesses, wie er oben bereits mehrfach beschrieben worden ist; Abheilung war in der Regel 3—4 Wochen nach Feststellung der ersten Krankheitserscheinungen eingetreten. Fig. 6 zeigt eine spontan erkrankte, in Abheilung begriffene Ziege, bei der die krankhaften Veränderungen ausnahmsweise fast nur auf die äußere Unterlippe beschränkt geblieben sind.



Fig. 6.
Spontan erkrankte Ziege, in Abheilung begriffen.

Ergebnis: Es ist auf verschiedene Weise gelungen, mit dem aus Afrika übersandten Borkenmaterial deutsche Ziegen wirksam zu infizieren.

Die Inkubation betrug bei kutaner Impfung und bei Einreibung von infektiösem Material auf die unverletzte Haut 2—3, bei spontaner Ansteckung durch infizierte Tiere 6—8 Tage.

Die Hauptveränderungen entstanden stets an Lippen und Nase (Entzündung, Auftreten von Eiterbläschen, umfangreiche Borkenbildung), sowie im Maul (Entzündung, Epithelabstoßung, granulierendes Gewebe, papillomartige Neubildungen). Bei **erwachsenen Ziegen** waren außerdem in der Regel das Euter, seltener die Haut, die Schamlippen und die untere Schwanzfläche, in einem Fall auch die Augen (schleimig-eitriger Ausfluß) ergriffen; ferner wurden geringgradiges Fieber und leichte Störung des Allgemeinbefindens beobachtet. Die **Ziegenlämmer,** bei denen die Krankheit durchweg schwerer verlief, zeigten außer den Veränderungen an Lippen und Nase sowie im Maul fast regelmäßig solche an der Haut (allgemeines Exanthem), seltener solche an Augen und Nase (serös-schleimiger Ausfluß); sie litten alle unter hochgradigem Fieber und zeitweiser schwerer Störung des Allgemeinbefindens.

Die Krankheitsdauer bei Ziegen und Lämmern betrug $3^1/_2$—4 Wochen. Todesfälle infolge der Krankheit sind nicht vorgekommen.

2. Übertragungsversuche auf andere Haustiere.

Für diese Versuche standen mir zwei Pferde, drei Hunde, ein Schwein, vier Jungrinder, drei Kälber und eine größere Anzahl von Schafen zur Verfügung.

Bei den zwei Pferden wurden Lippen, Nase und, nach Enthaarung durch Calciumhydrosulfid, eine handtellergroße Kruppenpartie oberflächlich skarifiziert und hierauf mit infektiöser Borkenemulsion von Ziegen eingerieben. Während der Beobachtungszeit von 3 Wochen ist keinerlei entzündliche Reaktion an den Impfstellen eingetreten, auch sonst sind keine Spuren von irgendwelchen Krankheitserscheinungen bei den Impftieren gesehen worden.

Ebenso negativ verliefen Übertragungsversuche auf drei in derselben Weise vorbehandelte Hunde (1. Spitz, 2 Boxer).

Auch der Versuch, ein Schwein nach Skarifikation der Lippen, der Rüsselscheibe und der Haut auf die nämliche Art zu infizieren, ist nicht gelungen.

Zwei ältere weibliche Jungrinder sind nach oberflächlicher Skarifikation der Lippen, des Flotzmauls, der äußeren Schamlippen, der Scheidenschleimhaut sowie einer durch Calciumhydrosulfid enthaarten handtellergroßen Kruppenpartie mit infektiöser Borkenemulsion von Ziegen zu infizieren versucht worden. Bei beiden Jungrindern heilten die skarifizierten Stellen innerhalb von 8—14 Tagen reaktionslos ab; auch sonst sind bei ihnen keinerlei Krankheitserscheinungen beobachtet worden. — Von zwei weiteren weiblichen etwa einjährigen Jungrindern wurde das eine an der rechten Euterhälfte oberflächlich geritzt und hierauf über das ganze Euter mit virulenter Ziegen-Borkenemulsion bestrichen. Bei dem anderen erfolgte die Infektion auf dieselbe Weise, nachdem das ganze Euter zuvor mit Schmirgelpapier gerieben worden war. Bei beiden Versuchstieren wurde in den folgenden Tagen an der Euteroberfläche das Auftreten von kleinen roten flohstichähnlichen Fleckchen beobachtet, die bis zu Hirsekorngröße heranwuchsen und sich dann in blasse, gelbweißen Eiter führende Bläschen umwandelten. Diese trockneten zu kleinen Börkchen ein, die rasch abfielen. 10 Tage nach der Infektion war vollständige Abheilung an den Eutern beider Versuchsrinder eingetreten; eine Weiterentwicklung des an sich schon sehr milde verlaufenden Krankheitsprozesses ist nicht erfolgt. — Leider standen mir keine Kühe zur Verfügung, so daß Übertragungsversuche auf milchende Kuheuter nicht vorgenommen werden konnten.

In gleicher Weise wie die beiden ersten Jungrinder sind auch drei Kälber im Alter von 3—6 Wochen vorbehandelt und infiziert worden. Zwei Tiere reagierten auf die Infektion in keiner Weise. Bei dem dritten Kalb traten nach zwei Tagen an den äußeren Lippen und an den äußeren Schamlippen die ersten Entzündungserscheinungen auf. Am 5. Tage nach der Infektion waren die Seitenränder der Lippen und Teile des Flotzmauls hochrot, stark entzündet und stellenweise mit kleinen gelbbraunen Borken bedeckt. Die Schamlippen waren geschwollen und entlang den Skarifikationsstellen hoch gerötet; an ihren Rändern (Schamspalte) hatten sich linsengroße rote Herdchen in größerer Zahl gebildet. Die Scheidenschleimhaut zeigte keinerlei Veränderungen. Die Ritzstellen auf der Haut der Kruppe erschienen samt ihrer Um-

gebung geschwollen und entzündlich gerötet. Am 9. Tage nach der Infektion waren die Entzündungserscheinungen überall wesentlich zurückgegangen, die Borkenbildung blieb gering; am 12. Tage waren auf der Kruppe und auf den äußeren Schamlippen sämtliche Entzündungserscheinungen und Borken verschwunden. Den ebenfalls entzündungsfrei gewordenen Lippen lagen nur noch wenige Börkchen auf, die nach wenigen Tagen vollends abfielen. Entzündliche Erscheinungen auf der Maulschleimhaut konnten bei dem Kalb zu keiner Zeit beobachtet werden; auch war das Tier die ganze Zeit über fieberfrei. — Mit Borkenmaterial von dem Kalb ist eine Ziege in üblicher Weise infiziert worden: das Ergebnis war negativ.

Schafe sind in größerer Zahl als Versuchstiere herangezogen worden, nachdem sich gezeigt hatte, daß sie für die Krankheit ebenso empfänglich waren wie die Ziegen. Krankheitserscheinungen, Krankheitsverlauf und Krankheitsdauer bei den erwachsenen Schafen und Schaflämmern entsprachen vollständig denen bei erwachsenen Ziegen und Ziegenlämmern, so daß auf die dort gegebene Schilderung verwiesen werden kann. — Wie bei den Ziegen, so ist es auch bei den Schafen durch Einreiben infektiösen Materials auf Lippen und Nase ohne vorherige Anritzung der Haut jederzeit leicht gelungen, die Krankheit in ihrer typischen Form hervorzurufen. Fig. 7 gibt den Kopf eines auf der Höhe der Krankheit befindlichen Schaflammes wieder. Außer den bei Ziegen vorgenommenen und dort beschriebenen Ansteckungsmethoden sind bei Schafen noch einige andere in Anwendung gekommen, die weiteren Aufschluß über das Verhalten des Ansteckungsstoffes im Tierkörper geben sollten.

Ein erwachsenes Schaf (Nr. 11) erhielt 100 ccm einer ziemlich dickflüssigen, aus Ziegenborken hergestellten Emulsion per os verabreicht. Bei dem Tier ist in den folgenden Tagen und Wochen weder eine Temperaturerhöhung beobachtet worden, noch sind am oder im Maul oder auf der allgemeinen Körperoberfläche irgendwelche Krankheitserscheinungen aufgetreten. Das Allgemeinbefinden des Tieres war nie gestört.

Ein anderes erwachsenes Schaf (Nr. 14) wurde mit in Glycerin aufbewahrt gewesenem virulentem Ziegen- und Schafborkenmaterial subcutan in der Weise infiziert, daß dem Tier zweimal im Zwischenraum von zwei Tagen Emulsionen unter die Haut des Oberschenkels gespritzt wurden, die jeweils aus 6 etwa erbsengroßen Borkenstückchen und 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung hergestellt worden waren. Im Anschluß an die Impfung stieg die Temperatur vorübergehend bis auf 40,1° C, ohne daß jedoch das Allgemeinbefinden des Tieres erheblicher beeinflußt wurde. Zu irgendwelchen Krankheitserscheinungen auf der Haut oder den Schleimhäuten ist es nicht gekommen. — Ein zweiter Versuch subcutaner Infektion ist an einem Mutterschaf (Nr. 81) in folgender Weise vorgenommen worden. 2 g virulenter trockener Schafborken wurden mit 10 ccm verdünnten Glycerins (4 : 1 Wasser) zu einer gleichmäßigen Emulsion verrieben, die dann auf 48 Stunden in den Brutschrank unter 37° C kam. Nach dieser Zeit erhielt das Schaf die eine Hälfte der Borkenemulsion (5 ccm) unter die Haut in der Gegend des Schwanzansatzes eingespritzt. 24 Stunden später zeigte das Tier Fieber (40,1° C) und Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens. Am 2. Tage nach der Impfung fiel die Temperatur auf 39,9° C, das Tier erschien munterer, sein Appetit war wieder gebessert. Irgendwelche Krankheitserscheinungen auf der äußeren Haut oder auf den Schleimhäuten waren nicht zu erkennen. Um festzustellen, ob es nicht gelänge, durch äußere Reizung der Haut spezifische Entzündungserscheinungen hervorzurufen, wurde am 2. Tage nach der Infektion die linke Ober- und Unterlippe, die linke Euterhälfte und die linke Seite der unteren Schwanzfläche mit Sandpapier gerieben. Trotzdem ist in der folgenden Beobachtungszeit an keiner Stelle der Haut oder der sichtbaren Schleimhäute ein Exanthem oder sonst eine krankhafte Veränderung zu beobachten gewesen. Temperatur und Allgemeinbefinden waren bereits am 4. Tage nach der Infektion wieder normal.

Die zweite Hälfte der für das Schaf Nr. 81 hergestellten Borkenemulsion erhielt ein weiteres Mutterschaf (Nr. 13) intraperitoneal in der rechten Flanke einverleibt. Alsbald nach dem Einbringen des Materials in die Bauchhöhle wurde das Tier sehr unruhig: es schüttelte sich, legte sich und stand wieder auf, sprang umher, stöhnte und schlug nach dem Bauch. Nach etwa 10 Minuten waren die auf Wirkung des Glycerins zurückzuführenden Unruheerscheinungen verschwunden. Bereits am 1. Tage nach der Infektion erschien das Schaf ziemlich schwer krank. Es lag gegen seine Gewohnheit fast stets am Boden und ließ sich nur ungern aufrichten, da jede Bewegung ihm starke Schmerzen zu verursachen schien. Die Nahrungsaufnahme war fast gleich Null. Die Temperatur stieg am 2. Krankheitstage auf 40,1° C, am 4. auf 40,3° C und bewegte sich weiter bis zum 8. Tage um 40,0° C herum. Während dieser Fieberperiode war das Tier schwer krank. Mit dem allmählichen Sinken der Temperatur vom 9. Tage ab begann sich auch das Allgemeinbefinden wieder zu heben; Appetit und frühere Munterkeit kehrten langsam zurück. Während der ganzen 4wöchigen Beobachtungszeit sind bei dem Schafe weder an der äußeren Haut noch an den sichtbaren Schleimhäuten irgendwelche Entzündungserscheinungen oder sonstige Veränderungen beobachtet worden.



Fig. 7.
Schaflamm auf der Höhe der Erkrankung.

Endlich habe ich noch versucht, von der Hornhaut des Auges aus eine Allgemeinerkrankung herbeizuführen. Bei einem Schaf (Nr. 11 a) wurden nach ganz oberflächlicher Ritzung der linken Hornhaut in das linke sowie in das intakte rechte Auge je 5 Tropfen einer virulenten Borkenemulsion eingeträufelt. Die Ritze auf der linken Hornhaut waren 10 Tage lang im Sonnenlicht eben noch als haarfeine Striche zu erkennen; irgendwelche Wucherungen des Hornhautepithels in ihrer Umgebung oder Geschwürsbildung auf der Hornhaut wurden nicht beobachtet; letztere blieb vielmehr vollständig klar. Ebenso sind am rechten Auge keinerlei Veränderungen aufgetreten. — Bei einem anderen Schaf (Nr. 14 a) sind nach etwas tieferer Ritzung der linken Hornhaut wenige Tropfen einer aus Borkenmaterial von drei typisch erkrankt gewesenen Schafen hergestellten Emulsion in das linke Auge eingeträufelt worden. Bereits nach 24 Stunden waren die Ritzstellen als starke grauweiße Striche zu erkennen; die Hornhaut in ihrer Umgebung erschien rauchig getrübt, die Bindehaut stark injiziert, außerdem bestand Tränenfluß; dabei wurde das Auge stets halb geschlossen gehalten. In den folgenden Tagen nahm die Hornhauttrübung rasch zu und es kam zur Ausbildung einer schweren eitrigen Keratitis, die zu ihrer vollständigen Abheilung über zwei Monate brauchte. Während der ganzen Zeit sind irgendwelche spezifischen Krankheitserscheinungen an der äußeren Haut oder an den sichtbaren Schleimhäuten nie beobachtet worden.

Es ist also nicht gelungen, bei Schafen durch stomachale, subcutane, intraperitoneale und intrakorneale Einverleibung virulenten Materials auf der allgemeinen Körperoberfläche oder auf den sichtbaren Schleimhäuten irgendwelche Krankheitserscheinungen hervorzurufen.

Ergebnis: Unter den Haustieren hat sich nur das Schaf in gleichem Maße für die Krankheit empfänglich erwiesen, wie die Ziege. Pferd, Hund und Schwein waren vollständig unempfänglich. Die bei zwei Jungrindern und einem Kalb nach der Infektion aufgetretenen geringgradigen Veränderungen konnten als spezifische nicht mit Sicherheit angesprochen werden. Kühe standen für Übertragungsversuche nicht zur Verfügung.

3. Übertragungsversuche auf Laboratoriumsversuchstiere.

Bei 4 weiblichen Kaninchen wurde je eine lorbeerblattgroße Stelle der Rückenhaut enthaart und gleich den äußeren Geschlechtsteilen leicht mit Schmirgelpapier gerieben; Lippen und Nase wurden oberflächlich geritzt. Auf die so vorbereiteten Körperstellen ist hierauf eine aus afrikanischem Urmaterial hergestellte Borkenemulsion leicht eingerieben worden. Bei 2 Tieren wurde außerdem je ein Tropfen der Emulsion in den Lidsack eingebracht. Sämtliche Übertragungsversuche hatten ein vollständig negatives Ergebnis. — Bei 4 anderen Kaninchen wurde die skarifizierte Hornhaut teils mit Blut, das bei frühzeitiger Borkenabnahme an den Lippen von Ziegen zutage getreten war, teils mit aus Lippenborken von Ziegen hergestellten Emulsionen infiziert. In der Folge entwickelte sich bei 2 Tieren eine umschriebene, bei 1 Tier eine diffuse und bei 1 Tier eine eitrige Hornhautentzündung. Eine Weiterverbreitung des Krankheitsprozesses auf andere Teile des Körpers erfolgte nicht.

Bei 4 weißen Meerschweinchen, die in derselben Weise infiziert wurden wie die 4 erstgenannten Kaninchen, blieb die Infektion gleichfalls ohne jeden Erfolg.

Ebenso ist es nicht gelungen, die Krankheit auf 4 weiße Mäuse zu übertragen.

Auch bei 2 Hühnern, die nach oberflächlicher Anritzung von Kamm, Kehllappen, Schnabelwurzel und Brust, sowie bei 2 Tauben, die an den beiden letztgenannten Körperstellen mit virulenter Borkenemulsion von Ziegen zu infizieren versucht wurden, sind keinerlei Krankheitserscheinungen aufgetreten.

Ergebnis: Es ist nicht gelungen, die Krankheit auf die gebräuchlichen Laboratoriumsversuchstiere (Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Mäuse, Hühner und Tauben) zu übertragen.

III. Verbreitung des Ansteckungsstoffes im Tierkörper und Kontagiosität.

1. Verbreitung des Ansteckungsstoffes im Tierkörper.

Um die Krankheit zu erzeugen, wurde in der Regel Borkenmaterial benützt, das von Lippen, Nase oder Haut erkrankter Tiere abgenommen worden war. Auch mit Blut, das gelegentlich der Abnahme noch fester anhaftender Borken von den Lippen abtropfte, konnte die Krankheit sicher übertragen werden.

Zum Zwecke der Feststellung, ob das im Körper erkrankter Tiere kreisende Blut den Ansteckungsstoff enthalte, wurden einer Ziege (Nr. 21a) 5 Tage, einer anderen (Nr. 20) 10 Tage nach der Infektion Blutproben aus der Drosselvene entnommen und durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Nach leichter Anritzung der Lippen ist hierauf raschestens die Maul- und Nasengegend der erwachsenen Ziege Nr. 12 mit Blut der Ziege Nr. 20, die des Ziegenlammes Nr. 12a mit Blut der Ziege Nr. 21a bestrichen worden. Beide Tiere sind nicht erkrankt. — Ferner wurde bei 2 Ziegenlämmern nach vorheriger leichter Anritzung der Lippen die Maul- und Nasengegend mit frisch entnommenem Drosselvenenblut eines auf dem Höhepunkt der Krankheit stehenden erwachsenen Schafes reichlich beschmiert. Auch diese beiden Lämmer haben in der Folgezeit keinerlei krankhafte Veränderungen erkennen lassen.

Um die Ansteckungsfähigkeit des Speichels zu prüfen, habe ich folgenden Versuch angestellt. Ein erwachsenes Schaf mit hoch akuten typischen Krankheitsveränderungen an den Lippen und im Maul erhielt Pilocarpin. hydrochloric. 0,03 in 5,0 aq. dest. unter die Haut eingespritzt. Hierauf ist der linke Ductus Stenonianus frei präpariert, durchschnitten und der aus der Schnittöffnung abtropfende wasserklare Speichel (etwa 20 ccm) in sterile Gläser aufgefangen worden. Nach Abbindung des Ohrspeicheldrüsenganges an seinem zentralen Stumpf wurde die Hautwunde vernäht. Sie ist sehr rasch per primam geheilt. Mit 12 ccm des so erhaltenen Speichels ist nach leichter Lippenanritzung ein Mutterschaf samt seinem Lamm an Maul und Nase mittels steriler Wattebäuschchen eingerieben worden. Beide Tiere sind nicht erkrankt. — Ein weiteres Schaflamm ist mit dem Rest des Speichels, nachdem er 3 Tage im Eisschrank gestanden hatte, auf dieselbe Weise und mit demselben negativen Ergebnis behandelt worden, wie die beiden vorhergehenden Tiere.

Dem nämlichen Schaf, das den Speichel zu den eben beschriebenen Versuchen lieferte, sind am Tage der Speichelabnahme etwa 50 ccm Harn mittels Katheters aus der Harnblase abgelassen worden, mit dem dann ein Mutterschaf samt seinem Lamm nach oberflächlicher Anritzung der Lippen an Maul und Nase eingerieben wurde. Beide Tiere sind nicht erkrankt.

Von einem Mutterschaf, das hochgradige vorgeschrittene Entzündungserscheinungen am und im Maul sowie am Euter zeigte, wurden mittels Katheters etwa 10 ccm Milch entnommen, die zur Infektion eines erwachsenen Schafes und eines Schaflammes verwendet worden sind. Bei beiden Tieren sind in der Folgezeit keinerlei krankhafte Erscheinungen zu beobachten gewesen.

Ergebnis: Im Drosselvenenblut, das infizierten Tieren am 5., 8. und 10. Krankheitstag entnommen wurde, war der Ansteckungsstoff nicht vorhanden. Ebenso erwiesen sich Speichel, Harn und Milch, die von hochgradig erkrankten Tieren stammten, nicht als infektiös.

2. Kontagiosität.

Erkrankte Tiere, die zu gesunden in eine gemeinsame Stallboxe verbracht wurden, haben diese innerhalb von wenigen Tagen mit Sicherheit angesteckt. Die Ansteckung geschah wohl meist durch gegenseitiges Beschnuppern und Beriechen, weshalb bei den angesteckten Tieren die ersten krankhaften Veränderungen in der Regel an den Lippen (besonders in den Maulwinkeln) oder auf der Maulschleimhaut aufzutreten pflegten. Dabei erfolgten Ansteckungen nicht nur von Ziege auf Ziege oder von Schaf auf Schaf, vielmehr sind spontane Krankheitsübertragungen auch von Ziege auf Schaf und von Schaf auf Ziege beobachtet worden. Erkrankte Sauglämmer infizierten gesunde Muttertiere regelmäßig am Euter, während andererseits von Müttern mit Krankheitserscheinungen am Euter saugende Lämmer mit Sicherheit am Maul angesteckt wurden. — Aber nicht nur in derselben Stallboxe infizierten sich die Insassen gegenseitig: es wurden auch Tiere, die im gleichen Stall eine von den Erkrankten entfernt befindliche Boxe innehatten, im Verlauf weniger Wochen fast regelmäßig angesteckt. Als Träger des Ansteckungsstoffes kam wohl in erster Linie der Stallwärter in Frage, der beim

Einstreuen, Füttern, Temperaturabnehmen usw. täglich mit den Tieren in Berührung trat. Auch von einem Stall in einen etwa 50 Schritt entfernt liegenden anderen ist die Krankheit (wahrscheinlich ebenfalls durch Stallpersonal) verschleppt worden. Ferner wurden Ansteckungen im Freien beobachtet bei Tieren, die gemeinschaftlich auf demselben Gelände weideten. Dagegen haben Tiere, die alsbald nach vollständiger Genesung mit gesunden zusammengesperrt wurden, in keinem Falle die Krankheit zu übertragen vermocht.

Ergebnis: Der Ansteckungsstoff ist in hohem Maße kontagiös. Die Krankheit wird von genesenen Tieren nicht, von infizierten dagegen regelmäßig übertragen, wobei sich Ziege und Schaf gegenseitig anzustecken vermögen.

IV. Mikroskopische und kulturelle Untersuchungen.

1. Mikroskopische Untersuchungen.

Bei einer großen Anzahl von Ziegen und Schafen wurden vor der Infektion sowie zu Beginn, auf der Höhe und gegen Ende der Krankheit Blutuntersuchungen vorgenommen.

Die Blutentnahme erfolgte teils aus dem Ohr, teils aus der Drosselvene. Die Untersuchung geschah im Dunkelfeld, im hängenden Tropfen und im gefärbten Ausstrich; sie erstreckte sich auf frisches, defibriniertes und Zitratblut. Die Ausstriche wurden nach den gewöhnlichen Färbemethoden, nach Manson (Borax-Methylenblau), nach Ehrlich (Hämatoxylin-Eosin), nach Giemsa (Lösung für die Romanowskyfärbung von Grübler), nach May-Grünwald (Eosin-Methylenblau), nach Pappenheim (Methylgrün-Pyronin), nach Pappenheim-Unna (Karbol-Methylgrün-Pyronin) sowie auf verschiedene andere Weisen gefärbt.

Die zelligen Blutelemente zeigten bei infizierten und nichtinfizierten Tieren nach Zahl und Form keine durchgehenden Unterschiede. In einzelnen Fällen wurden bei erkrankten Tieren Polychromatophilie und in Verbindung damit dichte basophile Körnelung vieler Erythrocyten beobachtet. Anisozytose bestand regelmäßig (auch bei gesunden Schafen); bei einigen Versuchsschafen waren die Größenunterschiede der Erythrocyten besonders stark. Kernhaltige rote Blutzellen und solche mit kleineren rundlichen, scharf umgrenzten, im Giemsapräparat rotviolett-hochrot erscheinenden Einschlüssen (Howell-Jolly-Körper?) wurden bei infizierten Tieren vereinzelt, Gebilde, die als freie Erythroblastenkerne anzusehen waren, gelegentlich aufgefunden. Bei den meisten Tieren schien während der Krankheit die Zahl der Blutplättchen vermehrt; sie wurden fast stets in großen Haufen beieinanderliegend vorgefunden, während sie bei gesunden Tieren mehr vereinzelt oder in kleineren Häufchen beisammen lagen. Unterschiede im Leukocytenbild — es wurden kleine und große Lymphocyten, neutrophil, eosinophil und basophil gekörnte polynukleäre Leukocyten, Übergangsformen und mononukleäre Leukocyten beobachtet — sind zwar festgestellt worden; sie waren indessen gering und nicht konstant, so daß in differentialdiagnostischer Hinsicht feste Anhaltspunkte zwischen infizierten und gesunden Tieren nicht gewonnen werden konnten.

Wurden Tieren, die auf der Höhe der Krankheit standen, Borken von den Lippen abgenommen und hierauf Abstriche von der zutage tretenden, üppig granu-

lierenden Lippenfläche gefertigt, so waren im gefärbten Präparat große Mengen von Bakterien nachzuweisen: vor allem Kokken, feinere und plumpere Formen, einzeln, zu zweien, in Haufen oder in kurzen Ketten aneinandergelagert, dann, in geringerer Anzahl, Stäbchen von verschiedener Form und Größe. Die roten und die in großer Zahl vorhandenen, vielfach in Zerfall begriffenen weißen Blutzellen (Eiterzellen) ließen keine Besonderheiten erkennen.

Abstriche der Hornhaut von 4 Kaninchen und 1 Schaf, bei denen sich im Anschluß an die korneale Infektion Hornhautentzündungen z. T. eitriger Natur ausgebildet hatten, wiesen in großer Zahl Kokken, Eiterzellen und Plattenepithelien auf; Einschlüsse in den letzteren, auf die besonders geachtet wurde, sind nie gesehen worden.

Bei einem Schaflamm fanden sich während mehrerer Tage in Abstrichen von zwei einzeln gelegenen, bohnengroßen, papillomatösen Wucherungen an der Oberlippe zahlreiche Spirillen mit 3—6 ziemlich regelmäßigen Windungen.

Ergebnis: Durch die mikroskopische Untersuchung konnten in ätiologischer Hinsicht bemerkenswerte Befunde nicht erhoben werden.

2. Kulturelle Untersuchungen.

Bei einer großen Anzahl von infizierten Tieren sind zu verschiedenen Zeiten Kulturversuche in der Weise angestellt worden, daß steril entnommenes Drosselvenenblut auf den gebräuchlichen festen Nährböden ausgestrichen oder in flüssige Nährböden (Peptonbouillon, Glycerinbouillon, Traubenzuckerbouillon, Martinsche Bouillon, Serumbouillon, steriles Serum verschiedener Tierarten u. a.) eingebracht wurde. Die Kulturen standen unter aëroben und anaëroben Verhältnissen bis zu drei Wochen im Brutschrank bei 37° C und wurden während dieser Zeit fortlaufend auf verschiedene Weise (Dunkelfeld, hängender Tropfen, Tusche- und Ausstrichpräparat) mikroskopisch untersucht. Das Ergebnis war stets negativ.

Wurde Blut, das nach Abnahme jüngerer Borken an Lippen und Nase in der Regel reichlich abtropfte, oder Material, das von den unter den Borken befindlichen granulierenden Wundflächen durch Abstrich gewonnen worden war, oder Borkenmaterial selber zu Kulturversuchen benützt, so wuchsen in der Hauptsache Eiterkokken (Staphylococcus pyogenes albus und — seltener — aureus, Streptococcus pyogenes); daneben waren in geringerer Zahl stäbchenförmige Bakterien verschiedener Art nachzuweisen. Infektionsversuche, die mit Misch- und Reinkulturen solcher Herkunft an Ziegen und Schafen immer wieder ausgeführt wurden, sind stets negativ ausgefallen.

Aus den inneren Organen und Körpersäften eines Schaflammes, das 9 Tage nach der Infektion getötet worden war, wurden in großer Zahl Kulturen auf festen und in flüssigen Nährböden angelegt. In den Kulturen aus Leber und Bauchhöhlenexsudat sind Kokken gewachsen; alle anderen Kulturröhrchen blieben steril. — Bei einem anderen Schaflamm, das 2 Tage nach der subcutanen Impfung mit einer größeren Menge Borkenmaterial an Septikämie eingegangen war, wurden aus dem rotsulzig infiltrierten Bindegewebe der Unterhaut in der Umgebung der Impfstelle Kokken isoliert;

in allen übrigen, aus den inneren Organen und Körpersäften angelegten Kulturen ist kein Wachstum erfolgt.

Ergebnis: Alle Versuche, den Ansteckungsstoff zu züchten, sind erfolglos geblieben.

V. Pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungen.

Wie bereits erwähnt, sind bei den Versuchstieren im Anschluß an die kutane Infektion spontane Todesfälle nicht vorgekommen. Um festzustellen, ob neben den von außen erkennbaren Krankheitserscheinungen am und im Maul sowie an der allgemeinen Decke, wie sie in Abschnitt II beschrieben sind, nicht auch in tiefer liegenden Teilen des Digestions- und Respirationsapparates krankhafte Veränderungen sich vorfänden, wurde ein Schaflamm, das sich auf dem Höhepunkte der Krankheit befand, am 9. Tage nach der Infektion getötet. Die Sektion ergab, daß sich die krankhaften Veränderungen lediglich auf Lippen, Nase und Maulschleimhaut, Zunge und allgemeine Decke beschränkten, während an den inneren Organen der Körperhöhlen keinerlei Abweichungen von der Norm festgestellt werden konnten.

Außerdem war es mir noch möglich, 6 meiner Versuchstiere, die am 17., 23., 40., 41., 74. und 115. Tage nach eingetretener Abheilung aus anderen Gründen getötet wurden, nach der Schlachtung eingehend zu untersuchen. In den Maulhöhlen der Tiere waren keinerlei Residuen der überstandenen Krankheit mehr zu erkennen, auch an den inneren Organen fanden sich nirgends krankhafte Veränderungen vor.

Es scheinen sich demnach die makroskopisch erkennbaren krankhaften Veränderungen bei infizierten Tieren auf Lippen, Nase, Maulschleimhaut und allgemeine Decke zu beschränken.

Ihre Entstehung, Entwicklung und Rückbildung läßt sich auf Grund der pathologisch-anatomischen und histologischen Feststellungen kurz folgendermaßen skizzieren.

An der äußeren Haut (Lippen, Nase, Euter, behaarte allgemeine Decke) kam es infolge der vom 2. Tage nach der Infektion ab sich einstellenden Entzündungserscheinungen zu einer serösen Durchtränkung und Lockerung der Epidermis sowie zu einer Abstoßung ihrer oberflächlichen Zellagen. Das in den tieferen Epidermisschichten angesammelte entzündliche Exsudat vermochte sich infolgedessen über die freie Oberfläche zu ergießen, wo es rasch zähklebrig wurde und zu gelblichbraunen Borken eintrocknete. Diese Exsudatausschwitzung war besonders an Lippen und Nase eine hochgradige und führte an diesen Teilen zu mächtiger Borkenentwicklung. Unter den Borken bildete sich ein fleischrotes, stark hervorquellendes, körnig bis kleinhöckerig aussehendes Granulationsgewebe, das in der Regel mit einem gelblichweißen Eiterbelag bedeckt erschien; an zelligen Elementen waren zwischen den Kapillargefäßen des Granulationsgewebes nur Leukocyten und meist spindelförmige Fibroblasten zu erkennen. Die Rückbildung erfolgte rasch. Vom 12.—16. Krankheitstage ab begannen die ersten Borken, sich spontan zu lösen und abzufallen. Wo sie abgefallen waren, trat frische rosafarbene, mit Haaren versehene Haut zutage. Kleine narbige Einziehungen der Oberfläche, die manchmal zu sehen waren, verschwanden bald. Etwa früher vor-

handen gewesenes Pigment ist stets verloren gegangen. Erscheinungen von Nekrose sind nie beobachtet worden.

An verschiedenen Stellen, besonders an der behaarten allgemeinen Decke, deren obere Epidermisschichten für das entzündliche Exsudat weniger leicht durchgängig erschienen, sammelte sich dieses zwischen Papillarkörper und Hornschicht an. Infolge Eindringens von pyogenen Bakterien kam es zu zirkumskripten Eiteranhäufungen, die unter Emporhebung der verhornten Epidermis zur Bildung von Eiterpusteln führten. Trotz besonderer diesbezüglicher Aufmerksamkeit ist es mir nie gelungen, bei meinen Versuchstieren Bläschen mit klarem serösem Inhalt entstehen zu sehen; ich habe immer nur eitrige Bläschen (Pusteln) zu beobachten Gelegenheit gehabt. Sie begannen nach wenigen Tagen, ohne daß es dabei immer infolge von Mazeration und Durchbruch der Hornschicht zum Austritt des eitrigen Inhalts an die Oberfläche kam, zu kleinen Borken einzutrocknen und fielen dann ab, während unter ihnen bereits eine vollständige Epithelregeneration erfolgt war.

Bei Tieren, die an der Lippenaußenseite infiziert waren, traten nach 5—8 Tagen auf der Maulschleimhaut punktförmige bis stecknadelkopfgroße hochrote Herdchen auf, die rasch teilweise Linsen- bis Pfennigstückgröße erreichten und sich dann scharf gegen ihre Umgebung abgrenzten. Infolge von Auflösung (Verflüssigung) der weichen Epithelschichten und nachfolgender Emporhebung der gelblichweiß erscheinenden oberen Zellagen durch Exsudat kam es bald zur Abstoßung der Hornschicht: ein flacher, scharf umrandeter, dunkelrosafarbener Defekt trat zutage, der häufig mit einem feinen gelblichweißen Belag bedeckt erschien. Es begann nun entweder von der Peripherie aus das Epithel über den Defekt herzuwachsen, der dann 5—8 Tage später, je nach seiner Größe, ohne Hinterlassung einer makroskopisch erkennbaren Narbe verschwunden war. Oder aber es setzten nach Abstoßung der Hornschicht Wucherungen ein, die zur Entstehung umfangreicher Granulationen (besonders an der Lippeninnenseite) oder papillomartiger Neubildungen führten. Diese letzteren erschienen auf der Schleimhaut der Zunge und des harten Gaumens im allgemeinen ziemlich flach, beetartig ausgebreitet, samtähnlich, zottig oder fadenförmig, auf der übrigen Maulschleimhaut waren sie höher, mehr groblappig, korallenförmig oder blumenkohlartig und erreichten die Größe einer Bohne, ja sogar einer Haselnuß. Eine Neigung, sich über ihre ursprüngliche Basis, der sie mit breitem Grunde aufsaßen, hinaus zu verbreiten, zeigten die Neubildungen nicht; sie heilten 10—14 Tage, nachdem sie den Höhepunkt ihrer Entwicklung erreicht hatten, glatt und rasch ab, ohne sichtbare Defekte auf der Schleimhaut zu hinterlassen. Ulzerationen oder Nekrosen sind niemals, weder an den Neubildungen selbst noch sonst auf der Maulschleimhaut beobachtet worden.

Nach dem Ergebnis der histologischen Untersuchung handelte es sich bei den eben beschriebenen Wucherungen auf der Maulschleimhaut durchweg um Neubildungen, die sich auf die oberflächlichen Hautschichten beschränkten, während die tieferen von ihnen unberührt blieben. In den letzteren ließen sich niemals weder Zellinfiltrationen noch degenerative Veränderungen an Muskeln oder Drüsen feststellen. Die Neubildungen bestanden aus einem bindegewebigen Grundstock, der sich aus einer vergrößerten, in bezug auf Länge und Breite nicht selten deformierten, manchmal auch keulenförmig

aufgetriebenen bezw. an der Spitze verzweigten Schleimhautpapille oder auch aus mehreren solchen zusammensetzte. In dem Bindegewebsgerüst erschienen neben sehr zahlreichen proliferierten, rundlichen und spindelförmigen Bindegewebszellen und spärlicheren Bindegewebsfibrillen viele Kapillargefäßchen, von denen mehrere an einigen Stellen teleangiektatische Erweiterungen zeigten; auch Hämorrhagien sind öfters beobachtet worden. Überzogen wurde das Bindegewebsgerüst von einem Epithelbelag, der den Einsenkungen und Spalten der Papillen folgte und seinen normalen Charakter in der Regel ziemlich bewahrte. An manchen Stellen erschien das Stratum corneum verdickt oder das Stratum germinativum infolge stattgehabter lebhafter Zellproliferation verbreitert, an anderen fehlten die oberen Epithellagen ganz; letzteres war insbesondere häufig der Fall an den granulierenden Flächen der Lippeninnenränder, wo dann statt der oberen Epithelschichten große Mengen von Eiterzellen dem Stratum Malpighi aufgelagert waren. Wucherungen des Epithels gegen die Tiefe sind nie beobachtet worden. Nach dem Ergebnis der histologischen Untersuchung handelt es sich bei den beschriebenen Neubildungen auf der Maulschleimhaut um Papillome. Irgendwelche Gebilde, die mit einiger Wahrscheinlichkeit als ursächliche Erreger der Krankheit hätten bezeichnet werden können, sind nicht zu beobachten gewesen.

Eingehend histologisch untersucht wurden die Hornhäute verschiedener korneal infizierter Kaninchen. Bei mehreren Tieren sind mit spitzer Lanzette auf die Hornhaut beider Augen jeweils 2—3 ganz oberflächliche Ritzer gesetzt worden, welche die Epithelschicht eben durchtrennten, die tieferen Hornhautschichten aber unverletzt ließen. Hierauf wurde in das rechte Auge mittels Pipette je 1 Tropfen virulenter Borkenemulsion eingeträufelt, während das linke Auge uninfiziert blieb. Nach 24 Stunden waren an beiden Augen die Ritzer bei guter Beleuchtung eben als feinste graubläuliche Striche erkennbar. Sie wurden auch in den nächsten Tagen nur wenig stärker; deutliche Unterschiede zwischen der infizierten und nichtinfizierten Seite bestanden nicht. Epithelwucherungen, die aus dem Niveau der Hornhautoberfläche hervorgetreten wären, sind nie beobachtet worden. Bei der histologischen Untersuchung konnten Einschlüsse in den Hornhautepithelien nach Art der Guarnierischen Körperchen, auf die besonders gefärbt und gefahndet wurde, in keinem Falle nachgewiesen werden. — Bei 4 anderen Kaninchen wurde vor Einträufelung des virulenten Materials eine etwas tiefer gehende Skarifikation der Hornhaut vorgenommen, wodurch sich stärkere Krankheitsveränderungen ausbildeten. Durch die histologische Untersuchung sind festgestellt worden beim 1. Kaninchen eine diffuse entzündliche Infiltration der Hornhaut besonders im Limbusgebiet, beim 2. und 3. je eine umschriebene Keratitis, beim 4. eine schwere eitrige Keratitis mit fast völliger Einschmelzung des Epithels. Spezifische Einschlüsse in den Hornhautepithelien sind auch in diesen Fällen stets vermißt worden. Dagegen wurde häufig, weniger in den Epithelien der Hornhaut als besonders in denjenigen der Haut (Granulationen an den Lippen, Neubildungen auf der Maulschleimhaut) eine auffallende Vermehrung der Nukleolarsubstanz beobachtet: in zahlreichen Zellkernen konnten 6 und mehr Nukleolen von verschiedener Größe festgestellt werden.

Das histologisch zu verarbeitende Material wurde fixiert in Formalin, wässeriger Sublimatlösung, Sublimatalkohol, Zenkerscher und Flemmingscher Lösung. Die Einbettung erfolgte in Paraffin. Zur Färbung wurden besonders Hämatoxylin (Ehrlich und Delafield)-Eosin, van Giesonsche Lösung, die Farblösungen nach Giemsa und May-Grünwald sowie Pappenheims Methylgrünpyronin herangezogen. Herr Hesse, dem ich an dieser Stelle besonders danke, hatte die Liebenswürdigkeit, einige Schnitte der inzwischen von ihm veröffentlichten (Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 44) neuen Methode zur Färbung der Guarnierischen Körperchen zu unterwerfen. Auch er konnte Einschlüsse in den Hornhautepithelien nicht nachweisen.

Ergebnis: Die pathologisch-anatomischen und histologischen Untersuchungsbefunde haben gezeigt, daß der Ansteckungsstoff an der äußeren Haut starke Entzündungserscheinungen mit hochgradiger Borkenbildung und ferner das Auftreten von Eiterpusteln hervorruft. Auf der Maulschleimhaut kommt es zu Entzündungserscheinungen, welche Epitheldefekte sowie die Entstehung von Granulationsgewebe und papillomatösen Neubildungen im Gefolge haben. Bezüglich des ursächlichen Erregers der krankhaften Veränderungen ergaben auch die histologischen Untersuchungen keine Anhaltspunkte; insbesondere ist der Nachweis von Zelleinschlüssen weder in den Neubildungen der Haut und Schleimhaut noch in der infizierten Kaninchenhornhaut gelungen.

VI. Serologische Untersuchungen.

Um festzustellen, ob sich auf serologischem Wege im Blute infizierter Tiere spezifische Antikörper nachweisen ließen, wurden aus frischem sowie aus mehrere Wochen altem, trockenem, von Lippen und Nase infizierter Tiere stammendem Borkenmaterial Extrakte in der Weise hergestellt, daß 4 g Borken in einem Mörser mit 40 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen Emulsion verrieben wurden. Sie blieb 2 Tage im Eisschrank stehen und wurde dann für 1 Tag in den Brutschrank unter 37° C gebracht. Hierauf wurde durch Papier filtriert und das Filtrat in zwei Hälften geteilt. Die eine Hälfte brachte ich für 15 Minuten in ein Wasserbad von 100° C und filtrierte hierauf durch Asbest und Berkefeldkerzen: das Filtrat diente als Extrakt für die Thermopräzipitation. Die andere Hälfte wurde, ohne vorher erhitzt worden zu sein, in derselben Weise klar filtriert und ebenfalls zur Präzipitation benützt. Als Kontrollantigene dienten zwei Extrakte, die aus Lippenstückchen gesunder Ziegen und Schafe in gleicher Weise wie die Borkenextrakte hergestellt worden waren. Die Ausführung der Reaktion geschah in Uhlenhuthschen Röhrchen so, daß zunächst die zu untersuchenden Seren eingebracht und darüber die Extrakte in sorgfältiger Weise geschichtet wurden.

Die Ergebnisse der Thermopräzipitation waren vollständig negativ; weder in den Seren infizierter noch in denen gesunder Tiere konnten Präzipitine nachgewiesen werden.

Erfolgversprechender erschienen die Ergebnisse, die mit ungekochtem Extrakt erhalten wurden und die ich deshalb in der Tabelle I aufgezeichnet habe. Sie ermunterten zu neuen Versuchen. Ich verdünnte zunächst die geringe Menge des übrig gebliebenen, brauchbar erscheinenden Extraktes zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung, um womöglich noch eine größere Anzahl von Seren durchprüfen zu können. Die Ergebnisse waren durchweg negativ; selbst die in der Tabelle I aufgeführten Sera, die mit unverdünntem Borkenextrakt deutlich präzipitiert hatten, ließen mit demselben Extrakt nach seiner Verdünnung keine Spur von Ringbildung mehr erkennen. Der Extrakt war also durch die Verdünnung unbrauchbar geworden.

Tabelle I.

Bezeichnung der Tiere	Serumprobe vom	Klinische Notiz	Borkenextrakt unverdünnt (aus Lippenborken infizierter Tiere) Ergebnis nach Stunden					Kontrollextrakt unverdünnt (aus Lippenstücken gesunder Tiere) Ergebnis nach Stunden				
			3/4	1 1/2	3	5	7	3/4	1 1/2	3	5	7
Schaflamm S. (infiziert)	24. 3.	vor der Infektion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	14. 4.	Beginn der Erkrankung	+	+(+)	++	++	+	—	—	—	—	—
	22. 4.	hochgradig erkrankt	+	+(+)	++	++	+	—	—	—	—	—
	26. 4.	„ „	+	+(+)	++	++	+	—	—	—	—	—
	2. 5.	fast abgeheilt	+?	+?	+	+	+?	—	—	—	—	—
Schaf S. (infiziert)	14. 4.	Beginn der Erkrankung	+	+	+	+	+?	—	—	—	—	—
	19. 4.	stark erkrankt	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	22. 4.	Beginn der Abheilung	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	26. 4.	In Abheilung	—	—	+?	+	+?	—	—	—	—	—
Schaf A. (infiziert)	29. 3.	Beginn der Erkrankung	+?	+?	+	+?	+	—	—	—	—	—
	31. 3.	stark erkrankt	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	1. 4.	„ „	+	+	+(+)	++	+	—	—	—	—	—
	7. 4.	In Abheilung	+	+	+(+)	+(+)	+	—	—	—	—	+?
	2. 5.	seit 3 Wochen abgeheilt	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schaflamm (nicht infiziert)	26. 4.	gesund	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schaf (nicht infiziert)	26. 4.	gesund	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Es bedeuten:

— = kein Ring,
+? = undeutlicher Ring,
+ = deutlicher Ring,
+(+) = starker Ring,
++ = sehr starker Ring.

Bereits vor Ausführung dieses Versuchs hatte ich mein ganzes, für Zwecke der serologischen Untersuchung verfügbares Borkenmaterial mit Äther, Alkohol, Chloroform, Bouillon, Karbolkochsalzlösung und gewöhnlicher physiologischer Kochsalzlösung angesetzt, um weitere und womöglich noch besser wirkende Extrakte zu gewinnen. Die in dieser Richtung ausgeführten Versuche befriedigten alle nicht, insofern die neu hergestellten Äther-, Alkohol-, Chloroform-, Bouillon-, Karbolkochsalz- und Kochsalzextrakte, wenn sie über Seren von infizierten Tieren geschichtet wurden, entweder nur undeutliche oder, was meist der Fall war, gar keine Ringbildung zeigten. Ich führe diese ungünstigen Ergebnisse darauf zurück, daß ich aus Mangel an Borkenmaterial gezwungen war, die neuen Extrakte wesentlich dünner herzustellen, als den ersten

Extrakt, mit dem die in der Tabelle I aufgeführten günstigen Ausschläge erzielt worden waren. Ob meine Vermutung, daß zur Erlangung brauchbarer Ergebnisse möglichst konzentrierte Extrakte notwendig sind, richtig ist, konnte ich nicht entscheiden, da mir neue Ziegen und Schafe zum Zwecke der Borkengewinnung nicht mehr zur Verfügung standen und die geringen Reste alten Borkenmaterials für andere Versuche zu verwenden waren.

Da der zuerst hergestellte unverdünnte Borkenextrakt bei den Präzipitationsversuchen vollständig aufgebraucht worden war, standen für die Komplementablenkungsversuche nur noch dünnere, aus kleineren Borkenmaterialmengen gewonnene Extrakte zur Verfügung. Die Ergebnisse, die mit ihnen erhalten wurden, waren durchweg unbefriedigend. Da ich aber, wie bereits erwähnt, neue konzentrierte Extrakte nicht mehr herzustellen in der Lage war, kann ich kein endgültiges Urteil darüber abgeben, ob die Komplementablenkungsmethode zum Nachweis etwaiger spezifischer Antikörper im Blutserum infizierter Tiere brauchbar ist oder nicht.

Ergebnis: Obwohl meine serologischen Untersuchungen aus Mangel an Borkenmaterial nicht in wünschenswerter Weise ausgebaut werden konnten, glaube ich doch aus ihnen schließen zu dürfen, daß es unter Benützung geeigneter Extrakte möglich ist, mittels der Präzipitation im Blutserum infizierter Tiere spezifische Antikörper nachzuweisen.

VII. Konservierung und Resistenz des Ansteckungsstoffes.

1. Konservierung.

Das Urmaterial aus Afrika wurde mir in 50%igem Glycerin übersandt, in das es Mitte April 1914 gelegt worden war. Ende Juli 1914 machte ich mit ihm einen Übertragungsversuch auf eine Ziege. Diese ist typisch erkrankt. Die Wirksamkeit des Ansteckungsstoffes war also während seines mehr als dreimonatigen Aufenthalts in 50%igem Glycerin nicht beeinträchtigt worden. — In zwei verschiedenen Proben infektiösen Borkenmaterials, das ich vor Kriegsbeginn (Juni 1914) in unverdünntes Glycerin gelegt hatte, erwies sich der Ansteckungsstoff bei der ersten nach Kriegsschluß vorgenommenen Prüfung (März 1919) als abgestorben. Die Zwischenzeit betrug $4^3/_4$ Jahre. Eine andere in 50%igem Glycerin aufbewahrt gewesene Borkenprobe war während derselben Zeit gleichfalls avirulent geworden.

Um festzustellen, ob der Ansteckungsstoff aus den Borken in das Glycerin übergehe, sind von einem auf der Höhe der Krankheit stehenden Schafe 2 g Lippenborken abgenommen und in 10 ccm unverdünntes Glycerin gebracht worden. Während der folgenden Tage wurde das im Zimmer stehende Glycerin mit den Borken öfters kräftig durchgeschüttelt; es nahm dabei eine hellbräunliche Farbe an. Am 6. Tage zog ich das Glycerin mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe durch ein doppeltes Papierfilter und brachte hierauf das bereits wasserklare Filtrat $^1/_2$ Stunde lang in eine elektrische Zentrifuge mit 2000 Umdrehungen. Mit der oberen Hälfte des in dem Zentrifugenröhrchen befindlichen Glycerins ist ein Schaflamm nach leichter Anritzung der Lippen infiziert worden. Es erkrankte in typischer Weise. Der Ansteckungsstoff ist also innerhalb von 6 Tagen aus den Borken in das Glycerin übergegangen. — Es war nun von Interesse, zu erfahren, ob aus dem Glycerin auch wieder ein Rückübergang auf nicht mit dem Ansteckungsstoff behaftete Borken erfolge. Um dies zu ermitteln, wurden in Glycerin, das den Ansteckungsstoff nachgewiesenermaßen enthielt, Borken gelegt, die von Wunden zweier in anderen Versuchen befindlicher Rinder und eines Pferdes abgenommen worden waren. Nach 10tägigem Stehen bei

Zimmertemperatur, während welcher Zeit täglich gut durchgeschüttelt wurde, zentrifugierte ich das Glycerin von den Borken ab, entnahm letztere, wusch sie in Wasser mehrmals aus und verarbeitete sie hierauf mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen Emulsion, die dann zur Einreibung der leicht angeritzten Lippen eines Schafes benützt wurde. Das Schaf ist nicht erkrankt. Der Ansteckungsstoff ist also aus infiziertem Glycerin nicht wieder auf artfremde, nicht infizierte Borken übergegangen.

Von seinen akzidentellen Keimen wurde infektiöses, in Glycerin gelegtes Borkenmaterial im Laufe von 4—6 Wochen fast vollständig befreit. Unter 37° C ging die Abtötung der Begleitbakterien wesentlich rascher vor sich, jedoch litt bei längerem Aufenthalt im Brutschrank auch die spezifische Wirksamkeit des Ansteckungsstoffes unter der Glycerinwirkung beträchtlich.

Noch besser als in Glycerin hält sich der Ansteckungsstoff in Borkenmaterial, das man nach Abnahme vom Tierkörper auf natürliche Weise eintrocknen läßt und in Glasröhrchen mit einfachem Watteverschluß aufbewahrt. Mit Trockenborken vom Juni 1914 wurden am 13. Februar 1918 eine junge Ziege und am 5. März 1919 ein erwachsenes Schaf in üblicher Weise am Maul infiziert. Bei der Ziege waren die ersten entzündlichen Erscheinungen an den Lippen am 3., bei dem Schaf am 4. Tage festzustellen. Beide Tiere sind typisch, aber nur leicht erkrankt. Der Ansteckungsstoff hatte während seines $3^1/_2$- bezw. $4^1/_2$jährigen Aufenthalts in dem trockenen, teilweise mit Schimmel bedeckten Borkenmaterial eine deutliche Abschwächung erfahren, was insbesondere in der längeren Inkubation, dem leichteren Krankheitsverlauf und der rascheren Abheilung zum Ausdruck kam. Seine Kontagiosität hatte der Ansteckungsstoff bewahrt, denn die oben genannte, am 13. Februar 1918 infizierte junge Ziege vermochte zwei gesunde erwachsene Ziegen, die mit ihr zusammen in eine Boxe gebracht wurden, spontan anzustecken. Die beiden erwachsenen Ziegen wiesen auch bereits wieder typische Entzündungserscheinungen an der Maulschleimhaut auf, während es bei der jungen Ziege und dem Schaf, die mit dem alten Trockenmaterial infiziert gewesen waren, nur an den Lippen zur Entzündung und Borkenbildung gekommen ist. Durch weitere Passagen (Schaf und Ziege) gelang es im Verlauf von 2 Monaten, die Virulenz des Ansteckungsstoffes soweit zu steigern, daß sie hinter der ursprünglichen vom Jahre 1914 kaum zurückblieb. Es ist also der Ansteckungsstoff in trocken aufbewahrten Borken bis zu $4^1/_2$ Jahren wirksam geblieben.

Ergebnis: Infektiöses Borkenmaterial, das 3 Monate lang in 50%igem Glycerin gelegen hatte, enthielt den Ansteckungsstoff in vollvirulenter Form. Ein Übergang des Ansteckungsstoffes aus den Borken in das Glycerin wurde festgestellt, dagegen fand kein Rückübergang desselben aus infiziertem Glycerin in nichtinfizierte Borken statt. Längerer Aufenthalt infektiösen Glycerinborkenmaterials im Brutschrank bei 37° C hatte eine rasche Abschwächung des Ansteckungsstoffes zur Folge. In trockenem Borkenmaterial hielt sich der Ansteckungsstoff bis zu $4^1/_2$ Jahren wirksam; in Glycerin war er während dieser Zeit abgestorben.

2. Resistenz des Ansteckungsstoffes.

a) Resistenz gegen Hitze.

Virulentes Borkenmaterial, das, mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen Emulsion verrieben, im Reagensglas über der Flamme einmal auf-

gekocht und daraufhin sofort abgekühlt wurde, vermochte ein Ziegenlamm und ein erwachsenes Schaf nicht mehr zu infizieren.

Einstündiges Verweilen virulenter Borkenemulsionen im Wasserbad bei 80° C und 70° C genügte ebenfalls, um den Ansteckungsstoff abzutöten. Wurden solche Emulsionen 1 Stunde bei 60° C im Wasserbad gehalten, so blieb der Ansteckungsstoff zwar lebensfähig, erfuhr aber eine erhebliche Abschwächung: eine mit derartigem Material infizierte Ziege sowie ein Schaflamm zeigten typische Krankheitserscheinungen erst am 7. bezw. 6. Tage nach der Ansteckung; bei beiden Tieren kam es an den Lippen und auf der Maulschleimhaut nur zur Eruption einzelner spezifischer Entzündungsherdchen.

Ergebnis: 1-maliges Aufkochen über der Flamme sowie 1-stündiges Erhitzen im Wasserbad auf 80° C und 70° C töteten den Ansteckungsstoff ab, während 1-stündiges Erhitzen im Wasserbad auf 60° C nur zu einer Abschwächung des Ansteckungsstoffes führte.

b) Resistenz gegen Fäulnis.

Eine aus infektiösem Borkenmaterial von verschiedenen Ziegen hergestellte Emulsion, die im Juli 1914 während 17 Tagen bei Zimmertemperatur gestanden hatte und in dieser Zeit stark verfault war, erwies sich bei Überimpfung auf eine erwachsene Ziege noch als vollvirulent.

17-tägiges Verweilen virulenter Borkenemulsion im Brutschrank bei 37° C hatte eine Abschwächung (längere Inkubation, mildere Krankheitsform, raschere Abheilung bei dem Versuchstier), 53-tägiges Verweilen unter denselben Bedingungen eine Abtötung des Ansteckungsstoffes zur Folge; in beiden Fällen waren die Versuchsproben in hochgradige Fäulnis übergegangen.

In Borkenemulsionen, die 17 und 34 Tage lang im Eisschrank gestanden hatten, war der Ansteckungsstoff noch virulent; in solchen, die 90 Tage lang unter denselben Bedingungen gehalten wurden, war er abgestorben.

Ergebnis: In Borkenemulsionen wurde die Wirksamkeit des Ansteckungsstoffes nicht beeinträchtigt durch 17- und 34-tägiges Verweilen im Eisschrank und 17-tägiges Verweilen bei Zimmertemperatur (im Hochsommer), abgeschwächt durch 17-tägiges Verweilen im Brutschrank bei 37° C, vernichtet durch 90-tägiges Verweilen im Eisschrank und 53-tägiges Verweilen im Brutschrank bei 37° C.

c) Resistenz gegen Desinfektionsmittel.

8 g virulenten Trockenborkenmaterials wurden im Mörser zu einem feinen Pulver zerrieben und hierauf mit 160 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Mit dieser Borkenaufschwemmung sind, nachdem sie 1/2 Stunde gestanden hatte und hierauf gut umgeschüttelt worden war, 5 Zentrifugenröhrchen, in die dann verschiedene Desinfektionsmittel eingebracht wurden, auf folgende Weise beschickt worden:

Röhrchen I: 5 ccm Aufschwemmung + 5 ccm 10%iger Kreolin (Pearson)-Lösung (= 5%ige Wirkung des Kreolins).
Röhrchen II: 5 ccm Aufschwemmung + 5 ccm 10%iger Antiformin-Lösung (= 5%ige Wirkung des Antiformins).
Röhrchen III: 5 ccm Aufschwemmung + 5 ccm 10%iger Karbolsäure-Lösung (= 5%ige Wirkung der Karbolsäure).
Röhrchen IV: 5 ccm Aufschwemmung + 5 ccm 2‰iger Sublimat-Lösung (= 1‰ige Wirkung des Sublimats).
Röhrchen V: 5 ccm Aufschwemmung + 5 ccm physiologische Kochsalzlösung (= Kontrolle).

Nach 5 Minuten dauernder Einwirkung der Desinfektionsmittel auf die Proben in den einzelnen Röhrchen, wobei gut durchgeschüttelt wurde, sind diese mit physiologischer Kochsalzlösung (ca. 25 ccm) aufgefüllt, stark geschüttelt und sofort 1 Stunde lang scharf zentrifugiert worden. Darnach wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen und jede Bodensatzprobe nach oberflächlicher Anritzung der Lippen an je ein Ziegenlamm verimpft. Das mit Kreolinmaterial infizierte Tier erkrankte nicht, während die mit Antiformin-, Karbolsäure- und Sublimatmaterial behandelten Tiere ebenso wie das Kontrolltier typisch erkrankten.

In einem weiteren Versuch wurde ½ g virulenten Trockenborkenmaterials auf 24 Stunden in 10 ccm einer Sublimatlösung 1 : 1000 gelegt, darnach ausgewaschen, mit 5 ccm aq. dest. zu einer Emulsion verrieben und an ein Schaf in der üblichen Weise verimpft. Das Tier ist nicht erkrankt.

Ergebnis: Nach der von mir angewandten Versuchsmethode ist der Ansteckungsstoff durch 5 Minuten dauernde Einwirkung von 5%iger Kreolin (Pearson)-Lösung abgetötet worden, dagegen wurde er in seiner Wirksamkeit nicht beeinträchtigt durch ebensolange Einwirkung von 5%iger Antiformin-, 5%iger Karbolsäure- und 1‰iger Sublimatlösung. In Trockenborkenmaterial, das 24 Stunden in Sublimat 1 : 1000 gelegen hatte, war der Ansteckungsstoff abgestorben.

VIII. Filtrationsversuche.

Die Herstellung der Filtrate geschah auf folgende Weise:

3 g virulenten, von mindestens 3 verschiedenen Tieren stammenden Trockenborkenmaterials sind in einem Mörser zu feinem Pulver zerrieben, mit 150 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt und hierauf in den Schüttelapparat gebracht worden. Nach 24 Stunden wurde die Aufschwemmung aus dem Apparat genommen; beim Stehen schied sich im Verlauf von ½ Stunde ein grauer dicklicher Bodensatz ab. Die überstehende Flüssigkeit wurde zunächst durch Asbest klar filtriert und dann durch verschiedene Filterkerzen (kleine Berkefeldkerzen N 5 cm lang, größere Nordtmeyer-Berkefeldkerzen 15 cm lang und hohe Berkefeldkerzen 20 cm lang) geschickt. Von jedem der so gewonnenen Filtrate wurden 3 verschiedene Proben (5 ccm Filtrat allein, 5 ccm Filtrat + 5 ccm Nährbouillon, 1 ccm Filtrat + 9 ccm Nährbouillon) in den Brutschrank unter 37° C gebracht und 3 Wochen lang darin gehalten, während die übrige Filtratmenge im Eisschrank verwahrt wurde.

Waren die 3 im Brutschrank befindlichen Kontrollproben am 10. Tage noch vollständig klar, so wurden die im Eisschrank befindlichen Filtrate zum Infektionsversuch benützt. Die Kontrolltiere sind mit nichtfiltrierter Aufschwemmung, wie sie aus dem Schüttelapparat genommen wurde, infiziert worden. Diese hatte bis zum Tage der Infektion ebenfalls im Eisschrank gestanden. Die Ansteckung der Versuchstiere geschah in der Weise, daß Ziegen und Schafe nach oberflächlicher Lippenanritzung je 10 ccm keimfreien Filtrat bezw. je 2 ccm unfiltrierte Borken-

emulsion mittels steriler Pinzette und Watte am Maul eingerieben erhielten. Um ungewollte Ansteckungen nach Möglichkeit zu vermeiden, sind Filtrat- und Kontrolltiere jeweils in verschiedenen Stallgebäuden aufgestellt worden.

Die Ergebnisse der Filtratversuche habe ich in der Tabelle II aufgezeichnet. Während in den Versuchen III und IV die beiden mit keimfreien Filtraten infizierten Tiere nicht erkrankt sind, ist in den Versuchen I und II von den 4 mit keimfreien Filtraten infizierten Tierpaaren jeweils ein Tier erkrankt, das andere nicht, obwohl die Paare stets mit gleichen Mengen derselben Filtrate infiziert worden waren. Im Gegensatz zu den Kontrollen erkrankten die Filtrattiere stets leichter: während bei den ersteren bereits am 2. Tage nach der Infektion typische Entzündungserscheinungen im ganzen Bereich der Lippen auftraten, an die sich eine allgemeine hochgradige Verborkung des Maules und der Nase anschloß, sind bei den 4 erkrankten Filtrattieren erst vom 5. Tage ab an Lippen bezw. Nase 3 mal nur ein und 1 mal zwei entzündliche Einzelherdchen festgestellt worden, von denen aus dann später eine Weiterverbreitung der Entzündungserscheinungen auf Lippen, Nase, Maulschleimhaut und allgemeiner Decke erfolgt ist. Die entzündlichen Erscheinungen erreichten aber an Stärke und Ausdehnung nie diejenigen, die bei den Kontrolltieren stets zu beobachten waren. Die 6 nicht erkrankten Filtrattiere der Versuche I, II und III sind später mit virulentem Borkenmaterial infiziert worden und daraufhin in typischer Weise erkrankt; eine Immunität ist also durch die Verimpfung der Filtrate nicht eingetreten.

Von den 12 mit keimfreien Filtraten infizierten Versuchstieren der Tabelle II sind 8 nicht erkrankt, während bei 4 Tieren eine Ansteckung zustande gekommen ist. Da eine spontane Infektion dieser 4 Tiere, wenn auch mit ziemlich hoher Wahrscheinlichkeit, so doch nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden kann, darf die Passagemöglichkeit des Ansteckungsstoffes durch Filterkerzen nicht ganz von der Hand gewiesen werden, obwohl in der Mehrzahl meiner Versuche der Ansteckungsstoff in die Filtrate nicht übergegangen ist. Leider war es mir aus Mangel an Ziegen und Schafen nicht möglich, noch weitere Versuche anzustellen und auch andere als Berkefeldkerzen auf ihre Durchlässigkeit für den Ansteckungsstoff zu prüfen; auch konnte ich die mir wichtig erscheinende Frage nicht zur Entscheidung bringen, ob vielleicht durch geeignete Behandlung des Untersuchungsmaterials vor der Filtration (Aufschließung durch Mazeration usw.) die Passage des Ansteckungsstoffes durch Filterkerzen gefördert werden könnte.

Ergebnis: Nach der von mir bei der Filtration angewandten Methode hat sich der Ansteckungsstoff in der Mehrzahl der Fälle (8) als durch Berkefeldkerzen nicht filtrierbar erwiesen. Ob die in einem Drittel der Fälle (4) zustande gekommene Infektion auf die Wirkung der Filtrate zurückzuführen oder ob sie trotz der angewandten Vorsichtsmaßnahmen nicht doch auf unbekanntem Wege spontan erfolgt ist, konnte mit Sicherheit nicht entschieden werden.

Tabelle II.

Nummer und Datum des Versuchs	Versuchstier	Infektionsmaterial	Ergebnis des Infektionsversuchs
Versuch I (vom 11. 6. 14)	Ziege (erwachsen)	Berkefeld N-Filtrat (durch 2 Kerzen gegangen)	Nicht erkrankt.
	Ziege (jung)	dasselbe	Erkrankt: Am 5. Tag ein typisches Entzündungsherdchen an der Unterlippe; von ihm aus Weiterverbreitung.
	Ziege (jung) Kontrolle	Unfiltrierte Borkenemulsion	Vom 2. Tage ab typisch und hochgradig erkrankt; Entzündungserscheinungen am ganzen Maul.
Versuch II (vom 26. 6. 14)	Ziege (jung)	Berkefeld N-Filtrat (durch 2 Kerzen gegangen)	Nicht erkrankt.
	desgl.	dasselbe	Erkrankt: Am 5. Tag ein typisches Entzündungsherdchen an der rechten Unterlippe; von ihm aus Weiterverbreitung.
	desgl.	Berkefeld-Filtrat (Kerze 20 cm hoch)	Nicht erkrankt.
	desgl.	dasselbe	Erkrankt: Am 5. Tag im rechten Maulwinkel und an der linken Oberlippe je ein typisches Entzündungsherdchen; von ihm aus Weiterverbreitung.
	desgl.	Nordtmeyer-Berkefeld-Filtrat (Kerze 15 cm hoch)	Nicht erkrankt.
	desgl.	dasselbe	Erkrankt: Am 5. Tag auf der Nase ein typisches Entzündungsherdchen; von ihm aus Weiterverbreitung.
	desgl. Kontrolle	Unfiltrierte Borkenemulsion	Vom 2. Tage ab typisch und hochgradig erkrankt. Entzündungserscheinungen am ganzen Maul.
Versuch III (vom 6. 3. 19)	Schaf (erwachsen)	Berkefeld N-Filtrat (durch 2 Kerzen gegangen)	Nicht erkrankt.
	desgl.	dasselbe	Nicht erkrankt.
	desgl. Kontrolle	Unfiltrierte Borkenemulsion	Vom 3. Tage ab typisch erkrankt. Entzündungserscheinungen am ganzen Maul.
Versuch IV (vom 10. 5. 19)	Schaf (jung) desgl.	Berkefeld N-Filtrat (durch 1 Kerze gegangen)	Nicht erkrankt.
	Schaf (jung) „ (erwachsen) Kontrollen	Unfiltrierte Borkenemulsion	Vom 3. Tage ab typisch und hochgradig erkrankt. Entzündungserscheinungen am ganzen Maul.

IX. Immunität und Immunisierung.

Mehrere Tiere, die den Ansteckungsstoff auf natürlichem Wege aufgenommen hatten oder künstlich mit demselben infiziert worden waren, sind 7, 10, 23, 28, 42, 79, 103, 143, 150 und 209 Tage nach eingetretener vollständiger Genesung einer Reinfektion mit virulentem Borkenmaterial unterzogen worden. Bei keinem der 10 Tiere sind irgendwelche Krankheitserscheinungen aufgetreten: sie erwiesen sich sämtlich als immun.

Es war nun von Interesse, festzustellen, ob es durch eine geeignete Vorbehandlung gelänge, Tiere vor einer nachfolgenden Ansteckung mit virulentem Material zu schützen.

Ein 5 Monate altes Schaflamm erhielt intravenös 10 ccm Blutserum, subkutan hinter der linken Schulter 30 ccm Blutserum und subkutan hinter der rechten Schulter 30 ccm frisch entnommenes defibriniertes Blut von einem erwachsenen Schaf eingespritzt, das vor 10 Tagen künstlich infiziert worden war und sich auf dem Höhepunkt der Krankheit befand. Zwei Tage nach der Vorbehandlung ist das Schaflamm mit virulentem Borkenmaterial am Maul infiziert worden. Es erkrankte hierauf typisch und nicht weniger stark, als wenn keine Vorbehandlung stattgehabt hätte. Die passive Immunisierung mit Serum und Blut eines erkrankten Tieres hat also versagt.

Im Anschluß hieran habe ich die Frage geprüft, ob etwa Blutserum durchgeseuchter Tiere imstande sei, auf den Ansteckungsstoff in Borkenemulsionen eine viruzide Wirkung auszuüben. Zu diesem Zwecke wurden je 4 ccm einer virulenten dickflüssigen Borkenemulsion vermischt mit 4 ccm Blutserum eines gesunden Schaflammes und andererseits mit 4 ccm Blutserum eines zweiten gleichalterigen Schaflammes, das nach $3^1/_2$ wöchiger Krankheit eben vollständig genesen war. Die mit beiden Seren vermischten Borkenemulsionen kamen für 24 Stunden in den Brutschrank unter 37° C und wurden darnach zur Infektion von 2 Schafen benützt. Beide Tiere sind zu gleicher Zeit und in gleicher Stärke typisch erkrankt. Das Blutserum des durchgeseuchten Schaflammes hatte also den Ansteckungsstoff in der virulenten Borkenemulsion nicht zu schwächen oder gar abzutöten vermocht.

Daraufhin habe ich den Weg der aktiven Immunisierung beschritten und zunächst versucht, den Tieren einen Schutz gegen die nachfolgende künstliche Infektion zu verleihen durch Vorbehandlung mit altem, spontan abgestorbenem Glycerinborkenmaterial sowie mit Borkenemulsionen, in denen der Ansteckungsstoff durch Erhitzung im Wasserbad bei 100°, 80° und 70° C unwirksam gemacht worden war. Alle diese Versuche führten zu negativen Ergebnissen: eine wirksame Immunisierung mit abgestorbenem oder abgetötetem Material ist in keinem Falle gelungen. Ebenso erfolglos blieb die Vorbehandlung mit keimfreien Filtraten, worauf bereits im vorigen Abschnitt hingewiesen worden ist.

Um zu ermitteln, ob eine wirksame Immunisierung durch Vorbehandlung mit lebendem Material möglich sei, erhielten zwei erwachsene Schafe unter die Haut und eines in die Bauchhöhle Emulsionen von virulenten Glycerinborken eingespritzt. Das eine der subkutan geimpften Schafe ist 6 Tage nach der Vorbehandlung in üblicher Weise am Maul infiziert worden und daraufhin typisch erkrankt. Bei dem anderen subkutan geimpften Schafe ist die Reinfektion am Maul erst 3 Wochen nach Abschluß

der Vorbehandlung erfolgt. Dieses Schaf erkrankte nicht, es erwies sich als vollständig immun. Das intraperitoneal vorbehandelte Schaf ist nach Ablauf von 4 Wochen reinfiziert worden. Bei ihm entwickelten sich an den Lippen etwa 15 hanfkorn- bis linsengroße Entzündungsherdchen, die sich bald mit Borken bedeckten, keine Neigung zur Weiterverbreitung zeigten und rasch abheilten. Auf der Maulschleimhaut und auf der allgemeinen Decke sind keinerlei entzündliche Veränderungen beobachtet worden. Es ist demnach bei dem intraperitoneal vorbehandelten Schaf zwar keine Immunität eingetreten, dagegen war eine Erhöhung der Resistenz nicht zu verkennen.

Ergebnis: Überstehen der Krankheit verleiht Immunität; die längste bisher beobachtete Immunitätsdauer betrug 209 Tage. Das Blutserum eines durchgeseuchten Tieres entfaltete keine viruIizide Wirkung. Passive Immunisierung mit Serum und Blut eines erkrankten Tieres schützte nicht gegen eine nachfolgende künstliche Infektion. Mit abgestorbenem und abgetötetem Material sowie mit keimfreien Filtraten wirksam aktiv zu immunisieren, ist nicht gelungen. Intraperitoneale Vorbehandlung mit lebendem Borkenmaterial hatte keine Immunität, wohl aber eine deutliche Resistenzerhöhung zur Folge. Dagegen trat nach subkutaner Einimpfung lebenden Materials Immunität ein: am 6. Tage nach der Vorbehandlung war sie noch nicht nachzuweisen, 3 Wochen darnach war sie vollständig entwickelt.

X. Schluß.

Die im Vorstehenden beschriebene Krankheit stimmt im wesentlichen mit den Pocken überein; ich habe sie deshalb als solche bezeichnet. Ob es sich um echte Ziegenpocken oder vielleicht um eine besondere Form derselben handelt, lasse ich dahingestellt. Man könnte geneigt sein, das letztere anzunehmen, weil der von mir geschilderten Krankheit einige Merkmale, die bei den echten Ziegenpocken der Regel nach vorhanden sein sollen, fehlten. So ist mir die Übertragung auf Kaninchen und der Nachweis von Zelleinschlüssen in der infizierten Kaninchencornea oder in den Neubildungen der Haut und Schleimhaut erkrankter Ziegen und Schafe nicht gelungen. Nun fehlen in der Literatur Mitteilungen über Befunde von Zelleinschlüssen bei Ziegenpocken fast vollständig; wo etwa solche gemacht sind, erscheinen Zweifel an der echten Ziegenpockennatur des Untersuchungsmaterials nicht unbegründet. Da außerdem, abgesehen von Kuh und Schaf, die Pocken unserer Haustiere (Ziege, Schwein, Hund und Pferd) noch so gut wie unbearbeitet sind und keine Gewißheit darüber besteht, ob sie ebenfalls durch das Vorkommen von Zelleinschlüssen gekennzeichnet sind, glaube ich, das Fehlen solcher bei der von mir beschriebenen Krankheit als mit der Bezeichnung „Pocken“ unvereinbar nicht betrachten zu sollen.

Gegen das Vorliegen echter Ziegenpocken mag außerdem eingewandt werden, daß es mir nie gelang, auf der Haut erkrankter Tiere typische Pockenpusteln in Gestalt von Bläschen mit klarem serösem Inhalt und der charakteristischen Pockendelle zu beobachten, daß ich vielmehr stets nur eiterführende Bläschen auftreten sah. Auf diesen Einwand möchte ich folgendes erwidern. Die Frage, ob die Pocken als selb-

ständige Krankheit bei Ziegen vorkommen (Nocard, Fayet, Brémond, Bonvicini, Marcone, Hansen, Böck, Hutyra-Marek u. a.) oder ob es sich bei den Ziegenpocken um keine den Ziegen eigentümliche Krankheit, vielmehr nur um „verirrte“ Schaf- oder Kuh- bezw. Menschenpocken handelt (Bollinger, Friedberger-Fröhner, Frese, Zeeb, Prietsch, Gins u. a.), ist noch unentschieden. Da, wie oben erwähnt, die wissenschaftliche Durcharbeitung der Ziegenpocken, die in Deutschland ziemlich selten, in Frankreich, Spanien, Algerien, Italien, Norwegen und anderen Ländern häufiger vorkommen, sich noch in ihren Anfangsstadien befindet, scheint es mir keineswegs ausgeschlossen, daß die Pockenkrankheit bei Ziegen auch in Formen auftreten kann, bei denen die typische Entwicklung der Pockenpustel, wie wir sie bei Mensch und Kuh zu sehen gewohnt sind, nicht in allen ihren Stadien in die Erscheinung tritt. Ich erinnere in dieser Hinsicht an die Schafpocken, die 1905 in Ostpreußen und Brandenburg, einige Jahre später in unserer früheren Kolonie Deutsch-südwestafrika und in jüngster Zeit während des Weltkrieges hinter unserer Westfront in so „atypischen“ Formen auftraten, daß die richtige Diagnose in hohem Maße erschwert und verzögert wurde. Deshalb möchte ich die Tatsache, daß bei meinen Versuchstieren typische Pockenbläschen mit klarem serösem Inhalt und der charakteristischen Pockendelle nicht zu beobachten waren, als gegen das Vorliegen von Pocken sprechend nicht ansehen.

Ferner gehören die blumenkohlähnlichen Granulationen und papillomatösen Neubildungen, die ich auf den Lippen und auf der Maulschleimhaut infizierter Tiere regelmäßig beobachtete, nicht zu dem gewöhnlichen Symptomenbild der Ziegenpocken; sie sind aber auch schon von anderer Seite erwähnt worden. So hat kürzlich Frese[1]) einen mit ansteckender Lungenbrustfellentzündung komplizierten Seuchengang von echten Pocken in einer größeren Berliner Ziegenherde beschrieben. Die Tiere, deren Krankheitserscheinungen auf Haut und Schleimhaut weitgehend mit den von mir beobachteten übereinstimmten, zeigten auf den Lippen an der Grenze von äußerer Haut und Schleimhaut himbeerfarbene und himbeerförmige, solide, papulöse, nach der äußeren Haut zu von einem Schorf begrenzte Wucherungen, die Frese meines Erachtens mit Recht als durch die Pockeninfektion entstanden betrachtet, obwohl auch bei der ansteckenden Lungenbrustfellentzündung der Ziegen von mehreren Beobachtern ähnliche Veränderungen am Maul beschrieben worden sind.

Eine Klärung der Frage, in welchem Verhältnis die von mir geschilderte und als Pocken bezeichnete Erkrankung südwestafrikanischer Ziegen zu den echten Pocken steht, dürften Untersuchungen über die immunisierenden Wechselbeziehungen beider Krankheiten bringen, die bei nächster sich bietender Gelegenheit ausgeführt werden sollen.

Ausgedehnte papillomatöse Neubildungen im Maul von afrikanischen Ziegen hat bereits vor mehreren Jahren Firket[2]) gesehen und beschrieben. Für seine Fest-

---

[1]) Frese, Über Ziegenpocken in Komplikation mit ansteckender Lungenbrustfellentzündung. Monatshefte f. prakt. Tierheilkunde Bd. 30, 1919, Heft 1/2, S. 15—33.

[2]) Firket, C., Stomatite papillomateuse épizootique chez les chèvres du Congo. Bull. Agricole du Congo Belge Vol. II, mars 1911, Nr. 1, p. 127—130 und Archiv f. Schiffs- und Tropenhygiene Bd. 14, 1910, Nr. 5, S. 133—137.

stellungen stand ihm der in Alkohol konservierte vordere Teil des Maules einer jungen Ziege zur Verfügung, den Elskens, der Chef des Postens La Romée im Belgischen Kongo, unweit Stanleyville, mit einem Bericht im Mai 1909 an den belgischen Kolonialminister gesandt hatte. In ihm teilt Elskens mit, daß im Frühjahr 1909 unter den 33 jungen Ziegen des Postens La Romée eine bisher anscheinend nicht beschriebene Krankheit aufgetreten sei, die 20 Tiere befallen habe; 15 von ihnen seien nach etwa zweiwöchiger Krankheit unter den Erscheinungen heftiger Diarrhöe und fortschreitenden Zerfalls eingegangen. — Firket hat an dem von Elskens übersandten Material folgendes festgestellt:

Die im Maul befindlichen papillomatösen, fadenförmigen oder unregelmäßig verzweigten Wucherungen sind am stärksten in der Vorderpartie entwickelt. Der Alveolarrand des Unterkiefers ist beiderseits mit ihnen bedeckt; sie überragen das Niveau der Schneidezähne und hindern das Schließen des Maules sowie die Bewegungen der Zunge. Diese zeigt auf einem Teil ihrer Oberfläche feine, niedrige Wucherungen. Am Gaumengewölbe hat die Schleimhaut mehr filziges Aussehen. Die Zähne des Unterkiefers sind zum Teil verhüllt durch die Zahnfleischwucherungen, aber weder bloßgelegt noch wackelig. Die Nüstern sind nicht ergriffen, ebensowenig die äußere Haut; nur an einer Stelle der Oberlippe, nahe der Schleimhaut, ist der Beginn einer Wucherung zu erkennen. Nirgends, weder auf den papillomatösen Vorsprüngen noch auf den glatt gebliebenen Teilen der Schleimhaut, sind entzündliche Anschwellungen, Ulzerationen oder nekrotische Veränderungen zu beobachten, auch keine Krusten, welche die Wucherungen verkleben; diese bleiben für sich getrennt, beweglich.

Du Fonteny, dem Firket das Ziegenmaul mit den papillomatösen Wucherungen zeigte, hat in ihnen bestimmt Veränderungen wieder erkannt, die er früher im Becken des Kwango an Ziegen eines aus portugiesisch Angola gekommenen Transportes zu beobachten Gelegenheit hatte. Es seien hauptsächlich jüngere, aber auch erwachsene Tiere erkrankt gewesen. Die Eingeborenen, welche die Krankheit kannten, führten sie auf die schädlichen Einwirkungen einer niedrigen, mit starren feingezähnten Blättern versehenen Pflanze zurück. Nach Berleur soll die Krankheit zuweilen in Leopoldville bei den auf dem Markt zum Verkauf gestellten Ziegen beobachtet werden.

Da Firket nur konserviertes Material vom Maul einer Ziege untersuchen konnte und weitere Mitteilungen über die Krankheit in dem aus La Romée übersandten Begleitbericht nicht gemacht sind, ist es unmöglich, sicher zu entscheiden, ob Firket dieselbe Krankheit vorgelegen hat, wie mir. Ich möchte dies fast annehmen, um so mehr, als mein Material aus dem nördlichen Teil Deutschsüdwestafrikas stammt, der an portugiesisch Angola grenzt, wo nach Mitteilung du Fontenys die von Firket aus dem Kongo beschriebene Krankheit ebenfalls vorkommen soll.

Dagegen muß es fraglich erscheinen, ob die von Ziemann[1]) bei Ziegen in Kamerun beobachtete Krankheit mit der von mir bearbeiteten in Beziehung zu bringen ist.

Ziemann sah in der Trockenzeit zu Anfang des Jahres 1903 bei der kleinen westafrikanischen Ziege ein massenhaftes Auftreten hornhautartiger Bildungen an den Wangen sowie in der Ober- und Unterlippengegend. Die erkrankten Tiere der etwa 25 Haupt starken Herde des Bezirksamts in Duala zeigten um das Maul herum auf der Haut, zum Teil auch auf die Schleimhaut der Lippen übergreifend, 1-Pfennigstück- bis 3-Markstückgroße, trockene, schmutzig dunkelgraubraun gefärbte, über die Umgebung mehr oder weniger hervorragende Borken, die sich von

[1]) Ziemann, H., Über Cornua cutanea bei Ziegen Westafrikas. Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde Bd. 31, 1905, S. 312—316.

ihrer Unterlage nur schwer entfernen ließen. Das darunter liegende Corium war leicht entzündet und nässend. Die Dicke der Borken nahm in der Folgezeit zu, ihr Aussehen erschien zerklüftet. Einige Borken wuchsen in die Länge und konnten bei einem durchschnittlichen Durchmesser von 0,2—0,6 cm eine Länge von 2—9 cm erreichen. Sie bestanden aus verborntem Epithel und saßen in einigen Fällen so dicht, daß sie das Maul in Form eines verschiedene Lücken aufweisenden Bartes umgaben. Im Inneren des Maules wurden Exkreszenzen irgendwelcher Art oder Wunden nicht beobachtet. Die Tiere litten zum größeren Teil sichtlich unter Schmerzen am Maul, lagen apathisch herum und magerten schnell ab, da die Futteraufnahme durch die hornartigen Massen am Maul behindert wurde. 4 von den 18 erkrankten Ziegen gingen ein. Bei den genesenden Tieren bildeten sich die Exkreszenzen allmählich zurück, während sich gleichzeitig die Futteraufnahme besserte. Nach 3—4 Wochen zeigten die Tiere wieder das gewohnte Aussehen und die frühere Munterkeit. Versuche, die Krankheit durch Einreiben eines Gemenges von Borkenmasse und Saft des von der Borke befreiten Coriums in die skarifizierte Maulgegend zweier gesunder erwachsener Ziegen zu übertragen, blieben erfolglos. Es war indessen nicht festzustellen, ob vielleicht diese Tiere bereits in ihrer Jugend die Krankheit durchgemacht hatten. Unter den erkrankten Tieren waren keine Sauglämmer, sondern nur mehr oder weniger erwachsene Tiere. Ziemann vermutet deshalb, daß vielleicht das gierige Fressen des in der damaligen scharf ausgeprägten Trockenzeit ganz besonders harten, scharfkantigen Elefantengrases in Beziehung zu der Entstehung der Krankheit zu bringen sei. Den Eingeborenen Kameruns sei diese Ziegenkrankheit wohl bekannt, eine Ursache wüßten sie nicht anzugeben.

Analoge Veränderungen, wie sie Ziemann sah, sollen nach Firket auch im belgischen Mittel-Kongogebiet von Vermeulen und Beel bei Ziegen beobachtet worden sein. Sie wurden dort von den Eingeborenen auf den Genuß der von den Ziegen sehr geschätzten Ananasschalen zurückgeführt.

Im Medizinalbericht 1903/04[1]), den Ziemann über Kamerun erstattet hat, äußert er sich beim Kapitel Tierkrankheiten folgendermaßen: „Neu beobachtet wurde eine zu stärkster Borkenbildung an Maul und Nase führende lokale Krankheit der Ziegen, bei der es auch zu erheblichem Nasenkatarrh kam.“ Ob Ziemann mit dieser Erwähnung die 1905 von ihm beschriebenen oben erwähnten Cornua cutanea im Auge hat, oder ob ihm noch andere, durch ähnliche Symptome gekennzeichnete Erkrankungen bei Ziegen in Kamerun begegnet sind, die vielleicht der von mir bearbeiteten Krankheit näher stehen, läßt sich aus dem oben zitierten kurzen Satz leider nicht entnehmen.

[1]) Medizinalberichte über die Deutschen Schutzgebiete für das Jahr 1903—04. Berlin 1905, Seite 146.

Über Antikörper gegen Lipoide und Eiweißkörper im Typhusserum und die Ursache des Neißer-Wechsbergschen Phänomens.

Von

Stabsarzt a. D. **Schlemmer,**
früher kommandiert zum Reichsgesundheitsamte.

Die folgenden Untersuchungen stammen zum größten Teil aus der Zeit vor dem Kriege. Da es mir aus äußeren Gründen nicht möglich ist, sie völlig zum Abschluß zu bringen, sollen die bisherigen Ergebnisse nachstehend kurz mitgeteilt werden.

Das Neißer-Wechsbergsche Phänomen im baktericiden Reagensglasversuch ist eine der parodoxesten serologischen Tatsachen. Es besteht bekanntlich darin, daß im baktericiden Reagensglasversuch bei manchen Seris in den stärksten Serumkonzentrationen, wo man eine besondere Wirkung erwarten sollte, keine Abtötung der Keime eintritt, sondern die bakteriolytische Serumwirkung sich erst von einer gewissen Serumverdünnung an bemerkbar macht. Obgleich die Erscheinung schon lange bekannt ist, wurde für sie bisher keine befriedigende Erklärung gegeben. Die Entdecker nahmen an, bei einer gewissen Konzentration der Amboceptoren würde deren Avidität zum Komplement so stark, daß sie dieses verankerten, ohne selbst an das Antigen gebunden zu sein. Diese Erklärung hat schon im Prinzip etwas sehr Bedenkliches. Es wird zur Erklärung eine ad hoc erfundene Hilfshypothese herangezogen, die durch keine weitere Tatsache gestützt ist. Wir können jetzt nach den ausgedehnten Erfahrungen mit der Bordet-Gengoutschen Komplementablenkung wohl mit Sicherheit sagen, daß die von Neißer und Wechsberg gegebene Erklärung nicht zutrifft; denn die ganze Versuchsanordnung im Bordet-Gengoutschen Versuch basiert ja auf der Voraussetzung, daß der Amboceptor das Komplement nur dann bindet, wenn er selbst an das Antigen gebunden ist.

Ich gehe nicht näher auf die früher gegen die Deutung des Phänomens gemachten Einwände ein; sie betreffen die Behauptung, die Erscheinung sei zurückzuführen:

I. Auf Agglutination der Bakterien, durch die die Amboceptoren mechanisch von den Bakterien ferngehalten würden.

II. Auf normale Antikomplemente.

III. Auf Antikomplemente, die erst beim Immunisierungsprozeß entstanden sind.

Diese Einwände sind wohl durch die Arbeiten Wechsbergs und Lipsteins hinreichend widerlegt.

Das Phänomen ist in der Tat bedingt durch eine Bindung des Komplements. Dies geht daraus hervor, daß man durch Zugabe einer höheren Komplementdosis die Zone des Neißer-Wechsbergschen Phänomens einengen kann.

Ich führe hier einen eigenen Versuch an, der frühere Versuche anderer Autoren bestätigt.

Es werden mehrere Parallelreihen mit fallenden Mengen von Immunserum angesetzt. Alle Röhrchen enthalten die gleiche Bakterienmenge, die Röhrchen jeder einzelnen Reihe die gleiche Komplementmenge (normales Meerschweinchenserum), während die Komplementmenge der einzelnen Parallelreihen variiert wird.

Tabelle I.

Bakterien: Typhus Hertel,

Immunserum: Typhus-Immunserum vom Esel.

Immunserum-verdünnung	Komplementmenge					
	0,01	0,03	0,05	0,08	0,1	0,15
1/100	8 000	14 500	13 000	12 500	6 732	3 876
1/200	9 000	12 000	12 500	7 500	1 836	476
1/500	16 500	12 500	15 000	1 904	1 632	28
1/1000	12 000	14 500	5 780	340	36	6
1/2000	13 500	13 500	2 652	96	12	10
1/5000	15 500	2 720	354	16	12	1
1/10 000	14 500	1 836	245	20	12	5
1/20 000	6 000	3 672	340	18	11	5
1/50 000	2 380	3 060	544	24	15	5
1/100 000	3 530	1 088	340	2 108	9	3
1/200 000	—	1 904	272	28	15	5
1/500 000	—	2 312	476	25	13	7
—	16 500	—	272	35	15	15

Aussaat: 3876.
Immunserum 1/100 + Bakterien: 13 000.

Daß es sich dabei nicht um eine unspezifische Störung der Komplementverankerung oder eine Zerstörung des Komplements handelt, geht aus folgenden Versuchen Lipsteins hervor:

Setzt man einer Kombination Bakterien-homologes Immunserum-Komplement, die starke Bakericidie bewirkt, einen Überschuß von homologem Immunserum zu, so bleibt die Bakericidie aus; dies tritt aber nicht ein, wenn man statt des homologen ein heterologes oder inaktiviertes Normalserum zusetzt.

Die Komplement ablenkenden Stoffe kann man aus dem Immunserum entfernen durch vorherige Bindung mit der homologen Bakterienart, dagegen nicht durch Bindung mit heterologen Bakterien.

Es kann also als feststehend betrachtet werden, daß beim Zustandekommen des Neißer-Wechsbergschen Phänomens spezifische Amboceptoren und das Komplement beteiligt sind.

Gegen die von Neißer und Wechsberg selbst gegebene Erklärung über das Zustandekommen ihres Phänomens hat Levaditi einen zwingenden Einwand erhoben: Nach der Neißer-Wechsbergschen Ansicht befinden sich in der Flüssigkeit nebeneinander:

1. Mit Amboceptor beladene Bakterien,
2. mit Komplement beladene überschüssige Amboceptoren.

Würde man also Bakterien und Flüssigkeit voneinander trennen und in die Flüssigkeit neue homologe Bakterien einsäen, so müßte an diese der Komplex Amboceptor Komplement verankert werden, also Bakteriolyse eintreten. Dies ist aber nicht der Fall.

Levaditi nimmt zur Erklärung des Phänomens an, daß in den Immunseris zwei Arten von Amboceptoren vorhanden seien, aktive und inaktive. Die letzteren würden zwar an die Bakterien verankert und binden dann Komplement, seien aber nicht imstande, die Bakteriolyse hervorzurufen.

Einen interessanten Beitrag zu der Frage lieferte Gay. Es gelang ihm, das Neißer-Wechsbergsche Phänomen im hämolytischen Versuch hervorzurufen und zwar dadurch, daß er den gewaschenen Blutkörperchen das eigene inaktivierte Serum wieder zusetzte. In diesem Falle blieb bei Verwendung großer Immunserumdosen die Hämolyse aus, während sie bei schwächeren Immunserummengen eintrat. Gay erklärt diese Erscheinung so, daß in dem hämolytischen Immunserum auch Amboceptoren gegen das Serumeiweiß vorhanden sind, daß durch den Komplex Serumeiweiß-Antiserumamboceptor-Komplement gebunden und dadurch der Eintritt der Hämolyse verhindert werde. Es handelt sich danach also um eine echte Komplementablenkung im Sinne von Bordet-Gengout.

Derselbe Effekt tritt schon ein, wenn die verwendeten Blutkörperchen mangelhaft gewaschen sind.

Gay ist der Ansicht, daß sich in analoger Weise das Neißer-Wechsbergsche Phänomen im baktericiden Reagensglasversuch erklären lasse und stellt entsprechende Untersuchungen in Aussicht. Diese scheinen aber nicht zum Ziel geführt zu haben, wenigstens habe ich in der Literatur weitere Angaben darüber nicht gefunden.

Man könnte sich ja vorstellen, daß das in jeder Kultur vorhandene gelöste Bakterieneiweiß eine echte Komplementablenkung im Sinne von Bordet-Gengout bewirkte und daß durch diesen Vorgang das Neißer-Wechsbergsche Phänomen verursacht würde. Diese Ablenkung müßte sich beseitigen lassen, wenn man aus der Aufschwemmung diese gelösten Eiweißkörper durch Waschen der Bakterien entfernt, genau wie man die Blutkörperchen vor Verwendung im hämolytischen Versuch wäscht. Daß diese Annahme nicht zutrifft, geht aus dem folgenden Versuch hervor.

Mehrere Schrägagarröhrchen Typhus Hertel werden abgeschwemmt, die Flüssigkeit wird in der schnell laufenden Zentrifuge solange zentrifugiert, bis die überstehende Flüssigkeit nicht mehr trübe aussieht; diese wird abgegossen und durch physiologische

Kochsalzlösung ersetzt. Diese Waschung wird noch zweimal wiederholt. Von den abzentrifugierten Bacillen wird eine Aufschwemmung hergestellt; eine zweite gleich dichte wird aus direkt vom Agar entnommenen Bacillen bereitet. Beide Abschwemmungen werden nebeneinander ausgewertet. Das Versuchsergebnis ist aus Tabelle II ersichtlich.

Tabelle II.

Serum: Eselserum Max,

Stamm: Typhus Hertel.

Serumverdünnung	I Agarbacillen	II gewaschene Bacillen	Serumverdünnung	I Agarbacillen	II gewaschene Bacillen
1/100	23 300	31 300	1/100 000	4 284	3 740
1/200	23 300	28 600	1/200 000	2 992	3 128
1/500	22 000	26 600	1/500 000	13 300	6 732
1/1000	24 300	24 000	1/1 000 000	9 000	5 508
1/2000	24 300	10 000	1/2 000 000	13 600	15 000
1/5 000	10 600	9 600	1/5 000 000	26 300	18 600
1/10 000	5 372	4 216	1/10 000 000	22 600	20 600
1/20 000	4 012	2 652	Aussaat	28 600	20 300
1/50 000	4 426	3 808	Komplementkontrolle	27 300	22 000

Mit den gewaschenen Bacillen tritt die Komplementablenkung in den stärkeren Serumkonzentrationen in derselben Weise ein, wie mit den ungewaschenen.

Nach diesem Versuch trifft die Vermutung Gays nicht zu, daß das Neißer-Wechsbergsche Phänomen auf einer Komplementablenkung durch in der Kultur vorhandene gelöste Bakterienbestandteile beruht. Die oben erwähnte Ansicht Levaditis von dem Vorhandensein „inaktiver“ Amboceptoren ist eine experimentell nicht begründete Hypothese, da wir sonst keine Tatsachen kennen, die die Annahme derartiger Amboceptoren rechtfertigten.

Immerhin scheint mir den Theorien beider Autoren ein richtiger Gedanke zugrunde zu liegen, nämlich der, daß die Komplementablenkung durch eine besondere Amboceptoren-Antigenreaktion hervorgerufen wird, die nicht identisch ist mit der Reaktion, die zur Bakteriolyse führt.

Es liegt ja nahe, anzunehmen, daß derartig paradoxe Reaktionen, wie das Neißer-Wechsbergsche Phänomen, dadurch bedingt sind, daß mehrere Reaktionen in derselben Flüssigkeit nebeneinander verlaufen und sich gegenseitig stören.

Nach dieser Annahme wären im Serum mindestens zwei Arten von Amboceptoren vorhanden. Und zwar würde die eine Art aus den eigentlichen bakteriolytischen Amboceptoren bestehen, die mit einem bestimmten Bestandteil der Bakterienzelle in Reaktion träten. Daneben müßte man dann noch eine zweite Art von Amboceptoren annehmen, die mit der Bakteriolyse nichts zu tun haben und mit einem anderen Zellbestandteil reagieren, als die bakteriolytischen Amboceptoren. Um die Richtigkeit dieser Annahme zu beweisen, wäre es nötig, eine Versuchsanordnung zu finden, die

es gestattet, die beiden vermuteten Amboceptorenarten, bezw. die beiden vermuteten Antigenarten voneinander zu trennen.

Auf den, wie ich glaube, richtigen Weg führte mich folgende Erwägung: Man stellt sich ja vielfach vor, daß die tierischen und z. T. die pflanzlichen Zellen aus einem wabenartigen Gerüst und einer Hülle von Lipoiden bestehen, und daß in dieses Gerüst die Eiweißkörper eingelagert sind. Nach dieser Annahme müßte man vermuten, daß diejenigen Antikörper, die die Zelle zur Auflösung bringen, also in erster Linie auf die Oberfläche der Zellen wirken, sich nicht, wie zumeist angenommen, gegen Eiweißstoffe, sondern gegen Lipoide richten.

Daß gegen Lipoide, ja sogar gegen Neutralfette Antikörper gebildet werden, ist ja schon bekannt. Ich erinnere an die von Much inaugurierten Arbeiten über die Partialantigene des Tuberkelbacillus und an die Arbeiten Kurt Meyers über Antikörper gegen Bandwurmlipoide.

Wären also nach dieser Theorie die eigentlichen bakteriolytischen Amboceptoren Antilipoidkörper, so würde sich die zweite vermutete Amboceptorenart, die das Neißer-Wechsbergsche Phänomen hervorrufen würde, gegen einen anderen Zellbestandteil, also vermutlich gegen Eiweiß richten.

Eine direkte Trennung der beiden Amboceptorenarten ist nicht möglich; anders liegt die Sache bei beiden Antigenarten, da es sich um Stoffe handelt, die sich gegen Lösungsmittel verschieden verhalten. Hat man nun eine Lösung, die nur die eine Antigenart enthält, so kann man mit Hilfe dieser Lösung die zugehörige Amboceptorenart aus dem Immunserum durch Bindung entfernen und mit dem verbleibenden Restserum, das nun nur noch die andere Amboceptorenart enthält, Versuche anstellen. Es wäre allerdings nicht zweckmäßig, die Versuchsanordnung so zu wählen, daß alle Amboceptoren der einen Art aus dem Serum entfernt werden, wenigstens nicht bei den Versuchen, die darauf hinaus laufen, die baktericiden Amboceptoren abzusättigen. Ein derartiges vollkommen von baktericiden Antikörpern befreites Serum würde bei der Auswertung im baktericiden Reagensglasversuch gar keine Wirkung mehr erkennen lassen; man wird also die zur Bindung benützte Antigenmenge so wählen, daß die baktericide Wirkung des abgebundenen Serums zwar geringer ist, als die des ursprünglichen, daß sie aber noch deutlich nachweisbar bleibt.

Mit den isolierten Antigenen wird man des weitern Immunisierungsversuche anstellen, um im Tierversuch Sera zu erzeugen, die nur eine Amboceptorenart enthalten.

Zur Herstellung von Lipoidextrakten extrahiert man die Bakterien mit Lipoide lösenden Mitteln: Alkohol, Äther, Petroläther, Chloroform, Tetrachlorkohlenstoffe usw.

Bei meinen Versuchen habe ich zur Gewinnung von Lipoiden Alkohol und Äther verwendet.

Es wurden Typhusimmunserum und Typhusbacillen verarbeitet, da die mir zur Verfügung stehenden Choleraseren kein Neißer-Wechsbergsches Phänomen erkennen ließen. Im einzelnen gestaltet sich der Gang der Versuche wie folgt:

A. Versuche mit Lipoidextrakten.

I. Bindungsversuche.

a) Extraktherstellung mit Alkohol.

Eine Anzahl Schrägagarkulturen Typhus Hertel werden mit je 3 ccm Alcohol absolutus abgeschwemmt, die Abschwemmung 16 Stunden geschüttelt. Die durch den Alkohol agglutinierten Bakterien werden abzentrifugiert, die abgeheberte Flüssigkeit wird auf ein Drittel ihres Volumens eingeengt. Mit diesem alkoholischen Extrakt wird das zu untersuchende Serum abgebunden. Da der im Extrakt vorhandene Alkohol bei zu hoch bemessener Dosis sowohl das Immunserum wie das Komplement schädigen würde, wird dem Kontrollserum ebensoviel Alcohol absolut. zugesetzt, wie dem Versuchsserum alkoholischer Extrakt. Bei der Bindung bildet sich nun in dem Versuchsserum der Komplex Antigen—Amboceptor. Ich nahm ursprünglich an, wenn man das abgebundene Serum im baktericiden Versuch auswerten würde, würde dieser Komplex Antigen—Amboceptor noch Komplement binden können, was den Ausfall des Versuches gestört hätte. Um das zu verhüten, setzte ich dem Versuchsserum eine ziemlich große Menge Komplement (normales Meerschweinchenserum) zu. Die gleiche Komplementmenge wurde dem Kontrollserum zugefügt[1]. Beide Sera wurden zur Bindung 1 Stunde bei 37° gehalten. Nach Ablauf der Bindung mußte sich im Versuchsserum der Komplex Antigen-Amboceptor-Komplement gebildet haben, der im weiteren Versuch nicht mehr stören konnte. Daneben mußte das Serum wahrscheinlich noch einen nicht verbrauchten Komplementrest enthalten. Das Kontrollserum enthielt noch die gesamte zugefügte Komplementmenge. Da, wie oben gezeigt, die Menge des im baktericiden Reagensglasversuch verwendeten Komplementes von ausschlaggebender Bedeutung für die Breite der Zone der Komplementablenkung ist (bei Verwendung größerer Komplementmengen tritt die Bakteriolyse schon bei stärkeren Konzentrationen ein), muß zunächst der in den beiden Seris enthaltene Komplementüberschuß beseitigt werden, sie werden daher $^3/_4$ Stunden bei 56° inaktiviert.

Nunmehr werden beide Sera nebeneinander im baktericiden Reagensglasversuch ausgewertet. Das Ergebnis ist aus Tabelle III (S. 544) ersichtlich.

Sowohl bei dem abgebundenen Serum als bei dem nicht abgebundenen Kontrollserum liegt die Grenze des Neißer-Wechsbergschen Phänomens bei der Verdünnung $^1/_{5000}$. Ganz anders verhält sich die Grenze der baktericiden Wirksamkeit. Während das Kontrollserum noch bei einer Verdünnung von $^1/_{1000000000}$ stark abtötet, reicht die maximale Wirkung des abgebundenen Serums nur bis zur Verdünnung $^1/_{2000000}$.

Es sind also durch die Bindung mit dem Lipoidextrakt beträchtliche Mengen baktericider Amboceptoren dem Serum entzogen, dagegen ist keine Spur der Antikörper abgebunden, die die Komplementablenkung erzeugen.

---

[1]) Bei späteren Versuchen stellte es sich heraus, daß die Zufügung von Komplement zum Serum bei der Bindung nicht notwendig ist, sie wurde daher unterlassen.

Tabelle III.

Typhusserum	Extrakt	Alkohol	Meerschweinchenserum	NaCl-Lösung
I 0,1	0,5	—	1,0	8,4
II 0,1	—	0,5	1,0	8,4

1 Stunde bei 37°, ¾ Stunde bei 56°. **Ausgewertet gegen Typhus Hertel.**

Serumverdünnung	I	II	Serumverdünnung	I	II
1/100	13 600	19 000	1/1 000 000	244	23 300
1/200	10 300	15 000	1/2 000 000	322	181
1/500	15 300	24 300	1/5 000 000	1 564	41
1/1000	13 000	13 600	1/10 000 000	2 856	110
1/2000	11 000	12 300	1/20 000 000	2 584	242
1/5000	1 836	884	1/50 000 000	3 692	150
1/10 000	83	99	1/100 000 000	5 236	544
1/20 000	58	39	1/200 000 000	4 012	1 496
1/50 000	49	31	1/500 000 000	5 352	748
1/100 000	49	30	1/1000 000 000	4 692	1 088
1/200 000	24	59	Aussaat	13 000	
1/500 000	68	5 032	Komplementkontrolle	8 000	

b) Extraktherstellung mit Äther.

36 Schrägagarkulturen Typhus Hertel werden mit Kochsalzlösung abgeschwemmt, die Abschwemmung wird scharf zentrifugiert, das Zentrifugat wird mit 50 ccm Äther 16 Stunden geschüttelt, der Äther abgegossen, die Bakterien haften als gleichmäßige Schicht an den Wänden des Gefäßes, der abgegossene Äther ist klar; er wird noch durch ein Berkefeldfilter filtriert. Der Äther wird im Wasserbade verjagt, der Rückstand wird mit 10 ccm Kochsalzlösung aufgenommen. Dabei bildet sich eine milchige Emulsion, mit der der Bindungsversuch in derselben Weise vorgenommen wird, wie oben bei dem Versuch mit alkoholischem Extrakt beschrieben ist.

Auf Tabelle IV (S. 545) ist der Versuch dargestellt. Das Ergebnis ist genau das gleiche wie in Versuch III. Sowohl bei dem abgebundenen Serum (I) wie bei dem nicht abgebundenen Kontrollserum (II) liegt die Grenze der Komplementablenkung bei Verdünnung 1/2000. Dagegen ist die Grenze der baktericiden Wirksamkeit für das Kontrollserum bei 1/50 000 000, für das abgebundene Serum bei 1/200 000.

Die Herstellung der Lipoidextrakte ist nicht besonders schwierig, man kann zur Ätherextraktion auch gut bewachsene Petri- oder Drigalskiplatten abkratzen und die feuchte Bakterienmasse mit oder ohne Glasperlen mit Äther schütteln. Man darf die Extraktion allerdings nicht zu energisch vornehmen, man erhält sonst bisweilen Extrakte, die auch die Zone der Komplementablenkung in geringem Grade beeinflussen. Vielleicht spielt hier der Wassergehalt des Äthers eine Rolle. Bisweilen bleibt die feuchte Bakterienmasse nicht zusammengeballt am Boden des Gefäßes oder als gleichmäßiger Überzug an den Gefäßwänden und den Glasperlen haften, sondern die Bacillen verteilen sich gleichmäßig im Äther. Die so erhaltenen Extrakte sind meist nicht brauchbar.

Tabelle IV.

Typhusserum		Emulsion	Meerschweinchenserum	Kochsalzlösung
I	0,1	6,0	2,0	1,9
II	0,1	—	2,0	7,9

1 Stunde Bindung bei 37°, $^{3}/_{4}$ Stunde Inaktivierung bei 56°. Auswertung gegen Typhus Hertel.

Serumverdünnung	I	II	Serumverdünnung	I	II
$^{1}/_{100}$	4 080	4 352	$^{1}/_{1\,000\,000}$	4 080	952
$^{1}/_{200}$	4 352	5 168	$^{1}/_{2\,000\,000}$	2 380	112
$^{1}/_{500}$	4 896	4 556	$^{1}/_{5\,000\,000}$	4 012	109
$^{1}/_{1000}$	4 488	4 828	$^{1}/_{10\,000\,000}$	4 624	522
$^{1}/_{2000}$	3 876	4 556	$^{1}/_{20\,000\,000}$	3 876	1 632
$^{1}/_{5000}$	680	442	$^{1}/_{50\,000\,000}$	4 216	476
$^{1}/_{10\,000}$	150	118	$^{1}/_{100\,000\,000}$	4 488	2 244
$^{1}/_{20\,000}$	88	89	$^{1}/_{200\,000\,000}$	4 964	4 080
$^{1}/_{50\,000}$	94	80	$^{1}/_{500\,000\,000}$	4 488	4 080
$^{1}/_{100\,000}$	92	133	Aussaat	3 200	
$^{1}/_{200\,000}$	110	86	Komplementkontrolle	6 050	
$^{1}/_{500\,000}$	1 904	150			

II. Immunisierungsversuche.

Mit den Lipoidextrakten gelingt die Immunisierung von Kaninchen ziemlich leicht. Ich verwendete Ätherextrakte, zur Immunisierung wurde ebenso wie zum Bindungsversuch der Äther des Extraktes verjagt, der Rückstand mit Kochsalzlösung aufgenommen und intravenös eingespritzt.

Tabelle V enthält die Auswertung eines derartigen Serums (I), als Kontrolle ist gleichzeitig ein in gewöhnlicher Weise gewonnenes Typhusserum (Eselserum Max) ausgewertet (II), das auch zu den meisten Bindungsversuchen benutzt wurde. Das Versuchsresultat enthält Tabelle V.

Tabelle V.

Serumverdünnung	I	II	Serumverdünnung	I	II
$^{1}/_{5}$	406	—	$^{1}/_{50\,000}$	42	52
$^{1}/_{10}$	176	—	$^{1}/_{100\,000}$	18	102
$^{1}/_{20}$	80	—	$^{1}/_{200\,000}$	952	74
$^{1}/_{50}$	12	—	$^{1}/_{500\,000}$	2 448	92
$^{1}/_{100}$	12	10 000	$^{1}/_{1\,000\,000}$	2 380	100
$^{1}/_{200}$	10	11 600	$^{1}/_{2\,000\,000}$	7 600	122
$^{1}/_{500}$	6	8 600	$^{1}/_{5\,000\,000}$	20 000	884
$^{1}/_{1000}$	6	9 300	$^{1}/_{10\,000\,000}$	22 000	3 400
$^{1}/_{2000}$	4	8 000	$^{1}/_{20\,000\,000}$	—	6 300
$^{1}/_{5000}$	7	1 020	Aussaat	8 600	
$^{1}/_{10\,000}$	13	128	Komplementkontrolle	10 000	
$^{1}/_{20\,000}$	23	76			

Das mit Ätherextrakt hergestellte Serum hat einen recht hohen Titer ($^1/_{200000}$). Dieser ist 25 mal niedriger als der des Kontrollserums ($^1/_{5000000}$). Dagegen zeigt das Extraktserum selbst in einer Verdünnung $^1/_5$ keine Komplementablenkung, während bei dem Kontrollserum diese Erscheinung noch bei der tausendfachen Verdünnung ($^1/_{5000}$) eintritt.

Eine nähere Prüfung dieses Serums, namentlich auf seinen Gehalt an anderen Antikörpern (Agglutininen, Präzipitinen, bakteriotropen Antikörpern) ist leider nicht vorgenommen, da diese Untersuchungen durch den Ausbruch des Krieges verhindert wurden.

Aus den bisher mitgeteilten Versuchen geht folgendes hervor:

Die baktericiden Amboceptoren des Typhusserums richten sich nicht gegen Eiweißkörper, sondern gegen Lipoide; sie werden durch Lipoide gebunden und durch Immunisierung mit Lipoiden erzeugt.

B. Versuche mit lipoidfreien Extrakten.

Es liegt nahe anzunehmen, daß die im Neißer-Wechsbergschen Versuch Komplement ablenkenden Antikörper sich gegen Eiweißkörper oder Abbauprodukte derselben richten. Es würde das Experimentum crucis darin bestehen, daß man lipoidfreie Extrakte herstellt und mit diesen Bindungs- und Immunisierungsversuche anstellt. Trotz sehr umfangreicher Versuche mit den verschiedensten Methoden ist es mir bisher nicht gelungen, vollkommen lipoidfreie Extrakte herzustellen. Vielleicht ist das überhaupt unmöglich; es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Lipoide in der wäßrigen Lösung für die Eiweißkörper als Schutzkolloide fungieren, bei deren Entfernung aus der Lösung die Eiweißteilchen zu gröber dispersen Teilen zusammenfließen und schließlich koagulieren.

Bei dem Ausschütteln der Extrakte mit Lipoide lösenden Mitteln bildet sich regelmäßig ein schaumig-gallertiger Niederschlag, der beim Trennen des wässerigen Extraktes von dem Schüttelmittel auf dem Scheidetrichter in dem Schüttelmittel bleibt. Entfernt man aus dem Niederschlag das Schüttelmittel durch Ausschütteln mit Chloroform, nimmt die Gallerte mit Kochsalzlösung auf und verjagt aus der Flüssigkeit den Chloroformrest durch Durchblasen von Luft, so löst sich die Gallerte in der Kochsalzlösung, die Lösung ist aber nicht, wie der ursprüngliche Extrakt, optisch inaktiv, sondern sie opalesziert, ein Zeichen, daß das Emulsoid in dem Lösungsmittel gröber dispers ist oder daß der Grad der Hydratation der einzelnen Teile ein geringerer ist. Beide Zustände würden eine Verringerung der Gesamtoberfläche des Emulsoids zur Folge haben, was mit einer Verringerung der Adsorption und damit der Bindung des zugehörigen Antikörpers verbunden wäre. Es ist nun durchaus möglich, daß die mit niedergerissenen Lipoide sich auch in dieser Lösung in sehr fein verteiltem Zustande befinden, daß verhältnismäßig grobe Eiweißteilchen von einer sehr dünnen Lipoidhaut überzogen sind; es zeichnen sich ja die Lipoide durch die Fähigkeit aus, außerordentlich feine Membranen zu bilden. Es hätte sich dann in der aus der Gallerte hergestellten Lösung das Mengenverhältnis der beiden Emulsoide (Eiweißstoffe und Lipoide) im Vergleich zum ursprünglichen Extrakt in der Art verschoben, daß

die Gallertelösung verhältnismäßig mehr Eiweiß und verhältnismäßig weniger Lipoid enthielte, als der ursprüngliche Extrakt. Bei der Veränderung des Dispersitätsgrades der Eiweißkörper könnte aber das Verhältnis der Oberflächen beider Emulsoide in der Gallertlösung dasselbe geblieben sein, wie in dem ursprünglichen Extrakt. Da aber die Adsorption nicht von der absoluten Menge der adsorbierenden Stoffe, sondern von ihrer Oberfläche abhängt, kann bei der Abbindung eines Serums mit der Gallertelösung das Mengenverhältnis der aus dem Serum entfernten Antieiweißkörper zu den entfernten Antilipoidkörpern dasselbe bleiben, wie bei der Abbindung mit dem ursprünglichen Extrakt, obgleich das Mengenverhältnis der bindenden Antigene zueinander sich in der Gallertelösung wesentlich zugunsten der Eiweißkörper verschoben hat. Wie gewaltig die Vergrößerung der Oberfläche bei abnehmender Teilchengröße ist, muß man sich einmal rechnerisch klar machen. „Ein Zuckerfabrikant, der zum Klären die gar nicht übertrieben große Menge von einem Kubikmeter Kohle kauft, würde bei einer Korngröße von einem Millimeter 600 qm, bei einer Korngröße von 0,1 μ dagegen 6 Millionen qm d. h. 6 Quadratkilometer sorbierende Oberfläche für sein Geld erhalten.“ (Ostwald, Die Welt der vernachlässigten Dimensionen.)

Bei den Versuchen der Darstellung lipoidfreier Extrakte ging ich von wäßrigen Extrakten aus. Eine sehr dichte Bakterienaufschwemmung wird bei 58° abgetötet, dann mit Glasperlen 24 Stunden geschüttelt. In vielen Fällen bildet sich eine fast gallertige Masse; man kann diese nicht sofort durch eine Berkefeldkerze filtrieren,

Tabelle VI.

I 0,05 Typhusserum + 0,5 Extrakt F + 4,45 Kochsalzlösung
II 0,05 „ — + 4,95 „
1 Stunde bei 37°. Ausgewertet gegen Typhus Hertel.

Serumverdünnung	I	II	Serumverdünnung	I	II
$^1/_{100}$	6 732	14 600	$^1/_{500\,000}$	176	120
$^1/_{200}$	1 360	12 600	$^1/_{1\,000\,000}$	388	254
$^1/_{500}$	53	9 600	$^1/_{2\,000\,000}$	504	380
$^1/_{1000}$	46	13 600	$^1/_{5\,000\,000}$	288	884
$^1/_{2000}$	29	16 600	$^1/_{10\,000\,000}$	1 020	6 664
$^1/_{5000}$	40	270	$^1/_{20\,000\,000}$	5 236	13 300
$^1/_{10\,000}$	38	42	$^1/_{50\,000\,000}$	8 704	14 000
$^1/_{20\,000}$	46	74	$^1/_{100\,000\,000}$	8 000	18 000
$^1/_{50\,000}$	53	50	$^1/_{200\,000\,000}$	14 000	14 000
$^1/_{100\,000}$	59	72	Aussaat	7 600	
$^1/_{200\,000}$	132	34	Komplementkontrolle	14 300	

Die Grenze der Komplementablenkung liegt bei dem abgebundenen Serum bei $^1/_{200}$, bei dem Kontrollserum bei $^1/_{2000}$. Die entsprechenden Serummengen verhalten sich = $^1/_{200} : ^1/_{2000}$, wenn man die Menge des Kontrollserums = 1 setzt = 10 : 1.

Die entsprechenden Serummengen für die baktericide Wirkung verhalten sich = $^1/_{10\,000\,000} : ^1/_{50\,000\,000}$, wenn man wieder die Serummenge des Kontrollserums = 1 setzt = 0,5 : 1.

Die Zone der Komplementablenkung ist im abgebundenen Serum eingeengt; die Zone der Baktericide ist nicht nur nicht eingeengt, sondern sogar erweitert.

sondern muß sie erst, bisweilen wiederholt, durch Asbest filtrieren, bis die Suspension nicht mehr trübe aussieht, dann erst wird sie durch die Berkefeldkerze geschickt. Den so entstehenden Extrakt habe ich in verschiedener Weise behandelt: Er wurde lange Zeit in zur Fettextraktion von Flüssigkeiten bestimmten Apparaten extrahiert, mit den verschiedenen Lipoide lösenden Mitteln geschüttelt; es wurde der verbleibende Extraktrest untersucht, in anderen Fällen ein Extrakt, der aus der Gallerte hergestellt war, die sich beim Ausschütteln des ursprünglichen Extraktes im Schüttelmittel bildet. Sowohl der ursprüngliche Extrakt, als auch der Extrakt aus Gallerte wurde in einigen Fällen mit absolutem Alkohol ausgefällt, der Niederschlag abzentrifugiert und in Kochsalzlösung aufgenommen, dies Verfahren wurde jeweils mehrfach wiederholt.

Nur in einem Falle gelang es, einen Extrakt zu erhalten, der nur die Zone der Komplementablenkung beeinflußte. Öfter gelang es, Extrakt zu erhalten, die die Zone der Komplementablenkung stärker beeinflußten als die Zone der Baktericidie, während nicht vorbehandelte Extrakte in der Regel beide Zonen vollkommen parallel verschieben.

Einige Bindungsversuche mit verschiedenen derartig hergestellten Extrakten sind in den Tabellen VI bis VIII wiedergegeben.

Tabelle VII.

I	0,05 Typhusserum	+ 0,8	Extrakt D.	+ 4,15	Kochsalzlösung
II	0,05 „	+ 0,3	„ D.	+ 4,65	„
III	0,05 „	+ 0,15	„ D.	+ 4,8	„
IV	0,05 „	—		+ 4,95	„

1 Stunde bei 37°. Ausgewertet gegen Typhus Hertel.

Serumverdünnung	I	II	III	IV
1/100	204	11 600	12 600	20 300
1/200	192	4 896	17 600	12 000
1/500	210	616	10 300	15 600
1/1000	172	396	2 380	13 000
1/2000	308	242	508	13 600
1/5000	284	304	278	2 516
1/10 000	316	264	284	318
1/20 000	292	300	262	332
1/50 000	186	352	334	248
1/100 000	456	222	336	332
1/200 000	748	320	292	344
1/500 000	2 992	308	360	304
1/1 000 000	9 000	2 448	644	298
1/2 000 000	12 000	9 600	1 292	418
1/5 000 000	11 300	3 116	680	234
1/10 000 000	12 000	8 000	14 000	8 300
1/20 000 000	11 000	13 000	5 168	10 600
1/50 000 000	—	9 600	12 300	5 100
1/100 000 000	—	—	16 300	13 300
Aussaat	11 300			
Komplementkontrolle	16 300			

In den 4 Reihen verhalten sich die Serummengen, die eben keine Komplementablenkung mehr hervorrufen = 100 : 20 : 5 : 1. Die Serummengen, die eben noch maximale baktericide Wirkung zeigen = 25 : 10 : 1 : 1.

Tabelle VIII.

Der Extrakt ist wiederholt mit Alkohol ausgefällt, der Bodensatz mit NaCl-Lösung aufgenommen. Mit dieser Lösung wird der Bindungsversuch angesetzt.

I 0,05 Typhusserum + 0,3 Extrakt + 4,65 NaCl-Lösung

II 0,05 „ — + 4,95 „

1 Stunde bei 37°. Ausgewertet gegen Typhus Hertel.

Serumverdünnung	I	II	Serumverdünnung	I	II
$^1/_{100}$	4 216	11 000	$^1/_{20\,000}$	6 528	1 292
$^1/_{200}$	1 428	9 300	$^1/_{50\,000}$	8 296	1 360
$^1/_{500}$	816	10 300	$^1/_{100\,000}$	14 000	8 300
$^1/_{1000}$	612	14 000	$^1/_{200\,000}$	11 600	11 300
$^1/_{2000}$	612	8 600	$^1/_{500\,000}$	11 600	13 600
$^1/_{5000}$	748	10 000	Aussaat	10 600	
$^1/_{10\,000}$	2 924	1 768	Komplementkontrolle	9 600	

Die eben noch für die Komplementablenkung wirksamen Serummengen verhalten sich in den beiden Reihen = 50 : 1. Die Serummengen, die eben noch starke Bakericidie hervorrufen = 5 : 1.

In dem Versuch auf Tabelle VI sind die oben ausgesprochenen Forderungen erfüllt: die Zone der Komplementablenkung ist eingeengt, die Zone der Bakericidie ist nicht nur nicht eingeengt, sondern sogar erweitert.

Nicht so eindeutig sind die Resultate der Versuche auf Tabelle VII und VIII. Bei diesen Versuchen ist auch die baktericide Zone durch den Extrakt beeinflußt, allerdings in geringerem Grade als die komplementablenkende.

Ähnliche Resultate habe ich noch häufiger erhalten. In anderen Versuchen dagegen wurden durch den ausgeschüttelten Extrakt baktericide und komplementablenkende Zonen ganz gleichmäßig beeinflußt. Ich bin also nicht imstande, eine Versuchsanordnung anzugeben, die sicher zu eindeutigen Resultaten führt, die Versuche sind in dieser Richtung nicht abgeschlossen.

Ich habe oben davon gesprochen, daß die komplementablenkenden Antikörper sich wahrscheinlich gegen Eiweißkörper richten. Ich bin dabei von der allgemein vorherrschenden Vorstellung ausgegangen, die in den Eiweißkörpern den Prototyp des Antigens sieht. Daß diese Annahme für das Antigen der baktericiden Antikörper des Typhusserums nicht zutrifft, habe ich oben nachgewiesen. Aber auch für das Antigen der komplementablenkenden Antikörper ist das keineswegs sicher, es könnten z. B. auch Abbauprodukte der Eiweißkörper eine Rolle spielen.

Jedenfalls geht aus den geschilderten Versuchen hervor, daß im Typhusserum mindestens zwei verschiedene Arten von Antikörpern vorhanden sind, die im bactericiden Reagensglasversuch wirksam sind.

Der Auffassung, daß das Neißer-Wechsbergsche Phänomen dadurch zustande kommt, daß gleichzeitig zwei Reaktionen im Serum ablaufen, die sich teilweise überlagern, kann nun folgender Einwand gemacht werden: Warum wird die baktericide Serumwirkung durch die komplementablenkenden Antikörper nur bei starken Serumkonzentrationen aufgehoben? Man könnte ja annehmen, daß die Menge der komplementablenkenden Antikörper so gering ist, daß die Grenze ihrer Wirksamkeit schon bei verhältnismäßig starken Konzentrationen erreicht ist, die Menge der baktericiden Antikörper sei demgegenüber beträchtlich größer, so daß ihre Wirksamkeit noch in Konzentrationen in die Erscheinung tritt, in denen die komplementablenkenden bereits unwirksam geworden sind. Bei dieser einfach quantitativen Auffassung müßte man allerdings annehmen, daß die Mengenunterschiede der beiden Antikörperarten sehr große seien. Reicht z. B. auf Tabelle VII die komplementablenkende Wirkung des Serums in Spalte IV bis zu einer Verdünnung von $^1/_{5000}$, die baktericide dagegen bis $^1/_{5000000}$, so müßte man folgern, das Serum enthielte 1000 mal so viel baktericide, als komplementablenkende Antikörper. Trifft das zu, so ist gar nicht zu verstehen, wie in den stärkeren Serumkonzentrationen die baktericiden Antikörper durch die an Menge so ungeheuer unterlegenen komplementablenkenden völlig außer Kurs gesetzt werden sollten. Zum Verständnis dieser Vorgänge muß ich etwas genauer auf den Mechanismus der Antikörperwirkung eingehen. Ich verweise dabei auf eine frühere Arbeit, in der diese Verhältnisse eingehend besprochen sind. (Untersuchungen über den Mechanismus der Amboceptor- und Komplementwirkung, Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte Band L, Heft 3, 1916.) Die Erklärung des Paradoxon liegt darin, daß wir die beiden Arten von Antikörpern nicht durch eine einfache chemische Reaktion nachweisen, sondern daß wir auf ihr Vorhandensein aus zwei ganz verschiedenen Vorgängen schließen: auf die komplementablenkenden aus der einfachen Bindung des Komplements an einem Komplex, der besteht aus einem einfachen chemischen Körper (wahrscheinlich Eiweißkörper oder deren Abbauprodukte) und dem Amboceptor, auf die baktericiden aus der Auflösung eines sehr komplizierten korpuskulären Elements, des Bakteriums. Natürlich ist auch bei der Auflösung des Bakteriums das Wesentliche die Bindung des Komplements an den Komplex Antigen—Amboceptor (in diesem Falle fungiert als Antigen das Lipoid). Aber zwischen beiden Fällen (Bindung des Komplements an den Komplex Eiweiß—Antieiweißamboceptor einerseits und an den Komplex Lipoid—Antilipoidamboceptor anderseits) ist ein wesentlicher Unterschied.

Bei der Bindung des Komplements an den Komplex Eiweiß – Antieiweißamboceptor muß jede Steigerung der Amboceptorkonzentration bei Vorhandensein einer genügenden Antigenmenge zur Verstärkung der Reaktion führen, da wir ja aus dem Ausbleiben einer zweiten Reaktion (der Bakteriolyse) direkt auf die Herabsetzung der Komplementkonzentration schließen können.

Anders liegen die Dinge bei der Verankerung des Komplements an den Komplex Lipoid—Antilipoidamboceptor. Zweifellos kann ein Bakterium wesentlich mehr Antilipoidamboceptoren binden, als zu seiner Auflösung notwendig sind. Im Versuch weisen wir aber nur die eben zur Auflösung des Bakteriums notwendigen Bindungen nach. Die über diese Minimaldosis hinausgehende Komplementmenge, die etwa noch an das Bakterium gebunden wird, entgeht der Beobachtung, die mit ihm beladenen Antilipoidamboceptoren treten nicht als bakteriolytische in die Erscheinung, sie erscheinen vielmehr als komplementablenkende.

Mit anderen Worten: die allen Amboceptorenarten gemeinsame Reaktion ist die Komplementbindung. Ein Spezialfall dieser Reaktion ist die Bakteriolyse; sie wird durch eine besondere Amboceptorenart (Antilipoidamboceptoren) hervorgerufen, und zwar nur insoweit, als unverletzte Bakterien im Reaktionsgemisch vorhanden sind.

Es sind deshalb in starken Konzentrationen die Chancen für die komplementbindenden Antikörper besser als für die bakteriolytischen nicht deshalb, weil sie etwa tatsächlich in starken Konzentrationen energischer wirkten als die bakteriolytischen, sondern deshalb, weil der von uns zum Nachweis der Reaktion benutzte Indikator (die Bakteriolyse) bei positivem Ausfall der Reaktion das Vorhandensein einer Minimaldosis des nachzuweisenden Stoffes (Antilipoidamboceptor), bei negativem Ausfall aber das Vorhandensein einer Maximaldosis der komplementablenkenden Antikörper anzeigt.

Dazu kommt noch ein zweiter wichtiger Punkt. Wie schon dargelegt, ist es für den Nachweis der Komplementablenkung ganz gleichgültig, ob die betreffenden Amboceptoren an ein Antigen gebunden werden, das in eine Bakterienzelle eingeschlossen ist oder an eins, das frei in der Reaktionsflüssigkeit gelöst ist. Dagegen tritt der Antilipoidamboceptor als bakteriolytischer nur dann in Wirksamkeit, wenn er an eine unverletzte Bakterienzelle gebunden ist und auch nur dann, wenn er in einer Minimaldosis gebunden wird. Nun ist aber eins klar, wenn zwei komplementverbrauchende Reaktionen miteinander in Konkurrenz treten, so wird die Reaktion aus der Konkurrenz siegreich hervorgehen, die schneller verläuft, da sie das Komplement bindet, ehe die andere Reaktion in Tätigkeit treten kann; mit anderen Worten, die Bindungsgeschwindigkeit wird für den Ausfall der Reaktion ausschlaggebend sein.

Nun sind die mechanischen Vorbedingungen für den Ablauf beider Reaktionen ganz verschiedene. Bei sehr starken Serumkonzentrationen tritt wahrscheinlich das ein, was wir bei Anwendung sehr konzentrierter Farblösungen auf ein zu färbendes Objekt beobachten, wie im letzteren Falle bei kurzer Einwirkung der Farblösung eine ungleichmäßige Färbung eintritt, Überfärbung einzelner Elemente bei noch mangelhafter Färbung anderer, so ist wahrscheinlich bei Einwirkung starker Serumkonzentrationen die Sensibilisierung der Bakterien zunächst eine ungleichmäßige, was dann zur vorzeitigen Auflösung einzelner Keime führen würde, während die Sensibilisierung oder die Komplettierung der größten Mehrzahl der Keime noch nicht erfolgt ist. Der Inhalt der aufgelösten Bakterien, also jedenfalls Eiweiß, würde sich in der Flüssigkeit verteilen und würden nun die Antieiweißamboceptoren an sich verankern. Es tritt nun der Zustand ein, daß die an ihr Antigen verankerten Antieiweißamboceptoren in großer Menge gleichmäßig über die Flüssigkeit verteilt sind und so sehr bald mit dem

Komplement zusammentreffen und dies verankern, während die Antilipoidamboceptoren an verhältnismäßig wenigen, räumlich weit getrennten Stellen, nämlich an den Bakterien konzentriert sind und in der Konkurrenz mit den Antieiweißkörpern unterliegen. Bei fortschreitender Serumverdünnung wird die Sensibilisierung der Keime gleichmäßiger werden, eine vorzeitige Lösung einzelner Keime wird nicht in dem Maße eintreten, wie bei starken Serumkonzentrationen; von den etwa frei werdenden Eiweißstoffen wird nur ein Teil sensibilisiert, der erst nach und nach Komplement verankert, so daß die an die ungelösten Bakterien gebundenen Antilipoidamboceptoren Zeit finden, ihrerseits Komplement zu binden. Treibt man die Verdünnung des Serums über einen gewissen Punkt hinaus, so werden die Bakterien nur noch sehr schwach sensibilisiert, jedes Bakterium trägt nur wenige Antilipoidamboceptoren und die Wahrscheinlichkeit, daß ein Komplementmolekül mit einem derartig verankerten Amboceptor zusammentrifft, wird spät eintreten, die Verankerung ist mehr dem Zufall überlassen, d. h. sie wird bei den einzelnen Keimen zu sehr verschiedenen Zeiten erfolgen. Daher wird auch bei diesen Verdünnungen wieder eine vorzeitige Lösung einzelner Keime erfolgen; enthalten diese Serumverdünnungen noch genügend Antieiweißamboceptoren, um alles Komplement zu binden, so tritt hier eine zweite Zone der Komplementablenkung auf. Sind in noch stärkeren Verdünnungen des Serums nicht mehr genug Antieiweißamboceptoren vorhanden, um den größten Teil des Komplements zu binden, sind aber noch zur minimalen Sensibilisierung der Keime ausreichende Antilipoidamboceptoren zur Verfügung, so folgt nochmals eine Zone der Baktericidie, an die sich endlich die Zone der vollkommenen Unwirksamkeit anschließt. Eine derartige zweite Zone der Komplementablenkung habe ich bei vielen Seris beobachtet, ich verweise hier auf Tabelle IV, Spalte III und Tabelle I, Spalte IV.

Es ist nach dem oben Gesagten verständlich, daß diese Erscheinung nur auftritt, wenn zwischen Immunserum und Komplementmenge bestimmte quantitative Beziehungen eingehalten sind. Diese zweite Zone der Komplementablenkung ist bisher kaum beachtet worden, obwohl ich sie auch in Versuchsprotokollen anderer Autoren schon gefunden habe. Allerdings ist sie in vielen Fällen nur so gering angedeutet, sie liegt meist in der Zone der inkompletten Bakteriolyse, daß man die Erscheinung wohl meist für eine Ungenauigkeit der Versuchsanordnung gehalten hat. Bedenkt man, daß in dem Reaktionsgemisch ja auch die Normalamboceptoren des Komplementserums enthalten sind, deren Menge wir gar nicht kennen, so ist klar, daß dadurch die Verhältnisse noch weiter kompliziert werden können.

Ich will hier noch erwähnen, daß auch bei der Hämolyse eine neben der eigentlichen Hämolyse verlaufende Nebenreaktion zu beobachten ist. Die besonderen Verhältnisse des hämolytischen Versuches bringen es mit sich, daß diese Reaktion keine Hemmung der Hämolyse in starken Konzentrationen bewirkt, sondern erst nach Abschluß der Hämolyse als sogenannte methämolytische Reaktion in die Erscheinung tritt. Die entsprechende, von Liefmann stammende Beobachtung ist folgende: Bringt man eine gewisse Menge sensibilisierte rote Blutkörperchen durch Komplementzusatz zur Auflösung und fügt sofort nach eingetretener Hämolyse der Flüssigkeit eine zweite Portion sensibilisierte Blutkörperchen zu, so werden auch diese aufgelöst.

Diese Auflösung bleibt aber aus, wenn man zwischen Auflösung der ersten Blutportion und Zufügung der zweiten einige Zeit verstreichen läßt. Es ist also der größte Teil des Komplements nach Ablauf der ersten Hämolyse noch erhalten, er verschwindet aber nach einiger Zeit, er wird zu der sogenannten methämolytischen Reaktion verbraucht. Die Annahme, daß es sich hier um eine zweite neben der Hämolyse verlaufende Reaktion handelt, erklärt eine Reihe zunächst ganz paradox erscheinender Beobachtungen, die bei der Hämolyse gemacht sind. Ich verweise hier auf meine oben zitierte Arbeit.

Die Konsequenzen der in dieser Arbeit vorgetragenen Anschauung gehen meiner Meinung nach über die Deutung des Neißer-Wechsbergschen Phänomens hinaus. Eine Trennung der beiden Arten von Antikörpern wäre unbedingt nötig bei Seris, die zu Heilversuchen benutzt werden sollen. Bisher ist dies nicht geschehen; man hat entweder die Menge der baktericiden Antikörper bestimmt, oder die Summe der beiden Antikörperarten (im Bordet-Gengoutschen Versuch). Dagegen sind die im Neißer-Wechsbergschen Versuch ablenkenden Antikörper nie beachtet worden, man hat das Neißer-Wechsbergsche Phänomen mehr als eine serologische Merkwürdigkeit betrachtet. Es wäre sehr wünschenswert festzustellen, welche Rolle die beiden Arten von Amboceptoren bei der Immunität und welche sie bei der Heilung des Typhus spielen. Es scheint mir manches dafür zu sprechen, daß bei der Immunität gegen Typhusbacillen in erster Linie Antilipoidkörper eine Rolle spielen, während bei der klinischen Heilung vorwiegend Antieiweißkörper beteiligt sind. Die genaue Verfolgung der Immunkörperkurven unter besonderer Berücksichtigung des Neißer-Wechsbergschen Phänomens bei einer größeren Anzahl von Typhusfällen könnte hier vielleicht Klarheit bringen. Es wäre auch zu untersuchen, ob es gelingt, Cholerasera herzustellen, die in starken Verdünnungen das Neißer-Wechsbergsche Phänomen geben, und festzustellen, ob mit derartigen Seris der sterile Choleratod verhindert werden kann. Es wären das wertvolle Vorarbeiten auf dem Wege, zu einem Heilserum gegen Typhus und Cholera zu gelangen.

Literatur.

1. E. Friedberger, Die baktericiden Sera. Kolle und v. Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 2.

2. Neißer und Wechsberg, Über die Wirkungsart baktericider Sera. Münch. med. Wochenschr. 1901, S. 697.

3. Gruber, Wiener klinische Wochenschr. 1901, Nr. 50.

4. Wechsberg, ebenda Nr. 51.

5. Derselbe, Weitere Untersuchungen über die Wirkung baktericider Immunsera. Wiener klinische Wochenschrift 1902, Nr. 28.

6. Lipstein, Die Komplementablenkung bei baktericiden Reagensglasversuchen und ihre Ursache. Zentralblatt f. Bakteriologie. Orig. Bd. 31, S. 460.

7. Levaditi, Compt. rend. d. l. soc. biol. 1902, Nr. 26.

8. Gay, Annales de l'Institut Pasteur. Bd. 19, S. 593.

9. Kurt Mayer, Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 11, S. 211, Bd. 15, S. 245, Bd. 20, S. 367.

10. Bergel, Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Orig. Bd. 27, S. 441.

Versuche über die Verwendbarkeit des Holzessigs als Ersatz für den Sabadillessig bei der Läusebekämpfung.

Von

Regierungsrat Prof. **Dr. L. Lange,**
Mitglied des Reichsgesundheitsamtes.

Der Sabadillessig (Acetum Sabadillae) ist seit altersher als ein bewährtes Mittel zur Bekämpfung der Kopfläuse bekannt.

Er stellt einen Auszug des Samens von Sabadilla officinarum, einer zentral-amerikanischen Zwiebelpflanze aus der Familie der Colchiaceen oder Giftlilien, mit essigsäurehaltigem Alkohol dar. Der Sabadillsamen enthält als spezifischen Bestandteil das Alkaloid Veratrin.

Infolge der Absperrung Deutschlands von der Zufuhr während des Krieges waren die Vorräte an Sabadillsamen bezw. Sabadillessig allmählich aufgebraucht. Wie bei so vielen chemischen Präparaten und Heilmitteln mußte man auch hier zu einem Ersatz greifen.

So wurde in den letzten Kriegsjahren von den Apotheken ein sog. künstlicher Sabadillessig verabfolgt, auf dessen Zusammensetzung unten noch eingegangen werden wird.

Bei der Verwendung dieses künstlichen Sabadillessigs bei der Berliner Schuljugend fiel nun bald auf, daß er von recht unbefriedigender Wirkung sei.

In einer im März 1919 im Reichsgesundheitsamte abgehaltenen Beratung über die Bekämpfung des Fleckfiebers machte der Berliner Stadtmedizinalrat Geh. Regierungsrat Dr. Weber hierauf aufmerksam und wies anderseits auf den rohen Holzessig als Mittel zur Beseitigung der Kopfläuse hin.

Für die Entscheidung darüber, ob der Holzessig in die amtliche Entlausungsanweisung aufgenommen werden soll, war es aber nötig, sich zunächst über zwei Fragen Klarheit zu verschaffen.

Erstens: Ist die Anwendung des Holzessigs frei von schädlichen Nebenwirkungen?

Zweitens: Wie verhält sich die läusetötende Kraft des Holzessigs, verglichen mit der des Sabadillessigs?

Über die erste Frage wurden im physiologisch-pharmakologischen Laboratorium des Gesundheitsamtes von Herrn Geh. Regierungsrat Prof. Dr. Rost einige orientierende Versuche angestellt; der darüber abgegebene Bericht lautet:

„Der rohe Holzessig, der nach dem D. A. B. mindestens 6% Essigsäure enthalten soll, entspricht nach Literaturangaben in seiner desinfizierenden Kraft etwa einer 5%igen Karbolsäurelösung. Er ist u. a. früher zur Behandlung des Kopfgrindes (Favus) benutzt worden und soll hierbei bisweilen Hautentzündungen und Abszesse hervorgerufen haben. Außer dieser Angabe, die aus französischen Quellen stammt (Cadet de Gassicourt, Bullet. et Mém. de la Soc. de Thér., 1885, S. 162) und in vielen Lehrbüchern wiederkehrt, hat sich in der Literatur nichts über Schädigungen nach der Anwendung des Holzessigs auf der äußeren Haut auffinden lassen.

Eigene Versuche. Der von der „Hageda" (Handelsgesellschaft Deutscher Apotheker) bezogene rohe Holzessig enthielt etwa 7% Essigsäure. Ein gleichzeitig von dieser Gesellschaft bezogener „künstlicher" Sabadillessig (das Präparat des D. A. B. war wegen des Mangels an Sabadillsamen nicht mehr beschaffbar) war nach folgender Vorschrift bereitet: Veratrin 0,4, Tinct. Ratanh. 2,5, Acid. acet. 28,0. Aqu. 400,0. Zu Vergleichszwecken wurde ferner aus Eisessig eine 6%ige Essigsäure hergestellt.

1. Versuche an der Bindehaut des Kaninchenauges. Von drei Kaninchen erhielt je eines einen gleich großen Tropfen 6%iger Essigsäure, bezw. rohen Holzessig, bezw. Sabadillessig in den Bindehautsack des einen Auges geträufelt. In allen drei Fällen zeigte sich eine in Schwellung und mäßiger Durchtränkung der Bindehaut bestehende Reizwirkung.

Bei der 6%igen Essigsäure und dem rohen Holzessig war ein Unterschied in der Wirkung nicht zu erkennen, während bei dem künstlichen Sabadillessig eine deutlich stärkere Reizung eintrat. Hier bestand auch in den nächsten Tagen noch eine eitrige Sekretion, als die Wirkung bei den beiden ersten Mitteln schon abgeklungen war.

2. Versuch am Hund. Ein junger Hund von 3 Monaten (etwa 3 kg schwer) wurde am ganzen Körper mit Holzessig wiederholt eingerieben. Verbraucht wurden hierzu 60 ccm. Der Hund zeigte keinerlei krankhafte Erscheinungen.

3a. Selbstversuch des Dr. S. 2,5 ccm Holzessig wurden im Laufe einer halben Stunde und unter ständigem Eintrocknen an der Sonne auf eine etwa 50 qcm große Hautstelle der Innenseite des linken Unterarms eingerieben. Am nächsten Tage war die Hautstelle durch die Teerbestandteile des rohen Holzessigs noch stark braun gefärbt; Entzündungserscheinungen fehlten und traten auch später nicht auf.

3b. Selbstversuch am linken Unterarm bei Dr. R. Das gleiche negative Ergebnis. In einem Selbstversuch bei Dr. R. erwies sich auch das echte Acet. Sabadillae des Arzneibuches als nicht hautreizend.

Die vorstehenden orientierenden Versuche erbrachten keinen Anhalt dafür, daß dem rohen Holzessig (infolge seines Gehalts an Teerstoffen) besondere hautreizende Eigenschaften zukommen."

Damit war die erste der oben aufgeworfenen Fragen hinreichend geklärt.

Mit der Bearbeitung der zweiten Frage, der Einwirkung des Holzessigs auf Läuse, wurde der Verfasser beauftragt.

Zu den Versuchen I—VI der ersten Versuchsreihe wurde als Holzessig ein Präparat verwendet, das sich im Materialienraum der Bakteriologischen Abteilung unter der Bezeichnung „Acet. pyrolignosum rectif Ph. G." Riedel, Berlin, vorfand. Zur Verwendung am Kopf dürfte das gereinigte Präparat, als jedenfalls weniger reizend, vorzuziehen sein, und außerdem darf man von ihm eine gleichmäßigere Zusammensetzung erwarten als von dem Acet. pyrol. crudum. Der etwas höhere Preis dürfte demgegenüber keine Rolle spielen. Der gereinigte Holzessig unterscheidet sich nach Schmidt (Pharmaz. Chemie 4. Aufl. 1901, S. 371) von dem rohen nur durch einen geringeren Gehalt an harzartigen Bestandteilen.

Im Materialienraum war auch noch eine größere Menge von gequetschtem echtem Sabadillsamen vorhanden. Aus diesem Samen wurde entsprechend der Vorschrift des D. A. 5 ein Acetum Sabadillae selbst hergestellt.

In den Versuchsniederschriften zu Versuch I—VI bedeutet „H" den erwähnten gereinigten Holzessig, „S" den selbsthergestellten Sabadillessig.

Als Läusematerial wurden möglichst frisch nach dem Laboratorium verbrachte (an abgeschnittenen Haaren befindliche) Kopfläuse, teilweise auch Nisse, benutzt.

Die Nummernbezeichnung der Versuche entspricht der zeitlichen Reihenfolge; hier werden sie jedoch nach ihrer sachlichen Zusammengehörigkeit angeordnet.

Versuch I vom 26. 8. 19.

Der Versuch wurde nach der von Hailer[1]) für seine Untersuchungen über den Einfluß chemischer Stoffe auf Läuse ausgearbeiteten Methode I ausgeführt.

Auf ein 2 cm im Geviert großes Wolläppchen, das in einem etwa 40 cm³ fassenden Glasdoppelschälchen liegt, werden je 3 Tropfen „S" bezw. „H" gegeben. Dann werden in jedes Gefäß auf die freie Glasbodenfläche 6 Läuse gesetzt.

Zu den in den Tafeln angegebenen Zeiten wurden die Schalen geöffnet und die Läuse auf ihr Verhalten geprüft.

In den Versuchen I—VI bedeutet das Zeichen

+ +: Die Laus macht spontane Bewegungen („aktiv beweglich");
+: Bewegungen nur auf „Reizung" mit Platinnadel;
±: Auch hierbei Bewegungen nur ganz schwach;
0: Auch auf „Reizung" keine Bewegung mehr. (Die Laus ist entweder bewußtlos oder abgetötet.)

Zur Entscheidung, ob wirklich abgetötet, wurden die bewegungslosen (0) und die nur auf Reizung sich bewegenden Läuse in frische reine Gefäße verbracht und hier verschieden lange weiterbeobachtet.

	„S" Von 6 Läusen			„H" Von 6 Läusen		
waren	+ +	+	0	+ +	+	0
nach 25′ . .	4	—	2	6	—	—
„ 55′ . .	3	—	3	6	—	—
„ 80′ . .	2	—	4	6	—	—
„ 3 Stdn. .	2	—	4	2	4	—
„ 5 „ .	—	2	4	1	5	—
„ 8 „ .	—	2	4	—	4	2
„ 20 „ .	—	1[2])	5	—	2[2])	4

[1]) Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 52, H. 2.

[2]) In frisches Reagensglas gebracht, nach 9 Stunden alle 3 Läuse + +. Während die eine „S"-Laus nach 2 Tagen tot war, kroch von den beiden „H"-Läusen eine nach 2 Tagen noch herum und war erst nach 3 Tagen tot. Die andere „H"-Laus nach 2 Tagen tot.

Ergebnis: „S“ zeigte sich zeitlich und quantitativ H ein wenig überlegen. Nur die „Dampfwirkung“ der Mittel konnte bei diesem Versuche in die Erscheinung treten.

Versuch V vom 26. 8. 19.

Wiederholung von Versuch I. Je 6 Läuse.

Die Läuse kriechen teilweise auf das „H“-Läppchen zu, halten sich dagegen anscheinend von „S“-Läppchen fern. (Die die Läuse abstoßende Wirkung des „S“ war auch schon bei Versuch I teilweise beobachtet worden.)

	„S“ von 6 Läusen				„H“ von 6 Läusen			
	++	+	±	0	++	+	±	0
Nach 1/2 Stunde . . .	4	2	—	—	3	3	—	—
„ 2 Stunden . .	—	—	4	2	1	4	—	1
„ 15 „ . . .	—	—	—	6	—	—	—	6

Ergebnis: „S“ war wiederum „H“ etwas überlegen.

Während bei den Versuchen I und V der Hauptsache nach nur die Dämpfe zur Wirkung gelangen konnten, wurde in den Versuchen III, IIIa und IIIb die Einwirkung der Mittel auf in sie untergetauchte Läuse geprüft.

Versuch III vom 26. 8. 19.

Je 6 Läuse werden auf den Boden eines Röhrchens gesetzt und mit „S“ bezw. „H“ übergossen. Nach 3, 6 und 9 Minuten werden je 2 Läuse entnommen und in eine frische Glasschale gelegt, wo sie sich u. U. wieder erholen können.

Je 2 Läuse entnommen nach	„S“						„H“					
	3′		6′		9′		3′		6′		9′	
Befund sofort bei Entnahme .	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
„ nach 2′	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ 9′	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
„ „ 12′	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0
„ „ 15′	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0
„ „ 16′	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0
„ „ 22′	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+
„ „ 3 Stunden . . .	±	±	±	±	±	±	+	+	+	+	+	±
„ „ 18 „ . . .	±	0	0	0	0	0	++	±	±	0	±	0

(Jeder Stab bedeutet eine Laus.)

Die nach 18 Stunden überlebende eine „S“-Laus und die 4 „H“-Läuse wurden in ein Reagensröhrchen mit angefeuchtetem Fließpapier verbracht. Während die „S“-Laus nach weiteren 4—5 Stunden tot war, erwiesen sich sämtliche 4 „H“-Läuse nach 9 Stunden noch, bezw. wieder „aktiv beweglich“.

Versuch IIIa vom 26. 8. 19.

Zur genaueren Bestimmung, wann untergetauchte Läuse bewegungslos werden, wurde unter dem Mikroskop je eine Laus in „S“ und „H“ gelegt. In beiden Flüssig-

keiten trat Stillstand der Bewegung in etwa 25 Sekunden ein. Die Läuse wurden noch bis zum Verlaufe von 1 Minute untergetaucht gehalten und kamen dann in eine reine Schale. Die 1 Minute „S"-Laus blieb während der nächsten $^1/_2$ Stunde auch auf Reizung unbeweglich. Bei Nachschau nach 3 und 18 Stunden zeigte sie auf Reizung schwache Bewegung (= ±). Nach weiteren 4 Stunden war sie tot.

Die 1 Minute „H"-Laus war sofort wieder schwach beweglich, blieb aber nach Verlauf weniger Minuten selbst auf Reizung bewegungslos und erwies sich auch nach 18 Stunden als tot.

Versuch IIIb vom 26. 8. 19.

Je 2 Läuse wurden in „S" bezw. „H" untergetaucht. Entnahme nach 15 und 20 Minuten.

Je 1 Laus entnommen nach	„S"		„H"	
	15'	20'	15'	20'
Befund sofort bei Entnahme	0	0	0	0
„ nach $^1/_2$ Stunde	0	0	0	0
„ „ 2 Stunden	0	0	0	+
„ „ 17 „	0	0	0	0

Ergebnis aus den Versuchen III, IIIa, und IIIb: Bei Untertauchen der Läuse in die Flüssigkeit wirkt „H" gleich rasch wie „S" „lähmend" (in etwa 25 Minuten). Die in Versuch III nach 3, 6 und 9 Minuten entnommenen Läuse erholten sich von der Wirkung des „H" später, als von der des „S" (12, 15 und 16 Minuten gegenüber sofort, 2 und 9 Minuten), doch kam bei „S" nach 3 Stunden eine schädigende Wirkung deutlicher zum Ausdruck als bei „H", und ein durchgreifender Unterschied zugunsten des „S" trat bei Beobachtung der nach 18 Stunden überlebenden Läuse zutage. Es sei jedoch gleich hier darauf hingewiesen, daß es sich bei den erwähnten Versuchen nur um ganz kurze Einwirkungszeit handelte.

Individuelle Unterschiede machten sich bei der 1 Minute „H"-Laus von Versuch IIIa und der 20 Minuten „H"-Laus von Versuch IIIb geltend.

Die stärkere Spät- oder Dauerwirkung des „S" dürfte auf den Alkaloid- (Veratrin-) Gehalt des Sabadillessigs zurückzuführen sein.

Die folgenden Versuche II und IV nähern sich mehr den Verhältnissen in der Praxis, wie sie unter den Kopfverbänden gegeben sind.

Versuch II vom 26. 8. 19.

Auf Wolläppchen, wie bei Versuch I, die aber mit je 10 Tropfen „S" bezw. „H" angefeuchtet und ganz durchtränkt sind, werden unmittelbar je 3 Läuse aufgesetzt. Darüber wird eine Glasplatte mit leichtem Druck, der später durch Unterlegen von Hölzchen noch vermindert wird, aufgelegt. Die bewegungslos gewordenen Läuse werden neben das Läppchen verbracht, bleiben aber immer noch unter der Glasplatte und sind daher auch weiterhin konzentrierten Dämpfen ausgesetzt.

waren	„S" Von 3 Läusen		„H" Von 3 Läusen	
	+	0	+	0
nach 8 Minuten	3	—	2	1
„ 10 „	2	1	2	1
„ 12 „	2	1	1	2
„ 15 „	1	2	1	2
„ 34 „	1	2	—	3
„ 37 „	—	3	—	3
„ 2³/₄ Stunden	—	3	—	3
„ 5 „	—	3	—	3
„ 20 „	—	3	—	3

Ergebnis: „H" wirkte zeitlich etwas stärker als „S", doch ist der Unterschied nur ein geringer (Eintritt der Bewegungslosigkeit — ohne nachträgliche Erholung — nach 8, 12 und 34 Minuten gegenüber 10, 15 und 37 Minuten).

Versuch IV vom 26. 8. 19

wurde als Ergänzung zu Versuch II vorgenommen.

Zwischen je 2 Läppchen, die mit zusammen 10 Tropfen „S" bezw. „H" getränkt waren, wurde je eine Laus gebracht.

Nach 2 Minuten waren beide Läuse bewegungslos, ebenso nach 15 Minuten. Nach 1 Stunde 40 Minuten wurden die Läuse aus den Läppchen herausgenommen und auf die freie Glasunterlage gebracht. Beide erholten sich nicht mehr.

Ergebnis: Kein Unterschied zwischen „S" und „H".

Versuch VI vom 26. 8. 19.

Um den bei der praktischen Anwendung des Sabadillessigs obwaltenden Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, wurde bei diesem Versuche in folgender Weise verfahren:

Zwei gleichgroße Leinenläppchen (etwa 13 mal 12 cm) wurden mit je 5 cm³ von „S" und „H", die vorher in eine Petrischale gegossen waren, durchtränkt, und in genau gleicher Weise zusammengefaltet. In das Innere der gefalteten Päckchen wurden Haare mit den daran sitzenden Läusen eingelegt und zwar bei jeder Probe 10 Läuse, außerdem 3 Nisse. Nach Einbringen der läusebesetzten Haare wurde ein leichter Druck auf die oben liegenden Stoffschichten ausgeübt und die Petrischalen verschlossen. Bei der „S"-Schale machte sich nach kurzer Zeit bemerkbar, wie 5—6 Läuse aus dem Päckchen wie fliehend hervorgekrochen kamen; bei dem „H"-Umschlag war keine ähnliche Erscheinung zu beobachten.

Die hervorgekrochenen Läuse der „S"-Schale wurden mit der Pinzette wieder in das Päckchen hineingebracht. Nach weiteren wenigen Minuten erwiesen sich alle Läuse in „S" und „H" als bewegungslos, — eine Reizung wurde nicht versucht. Die beiden mit Deckel verschlossenen Schalen kamen ebenso, wie zur Kontrolle das Gefäß, in dem die Läuse nach dem Laboratorium verbracht worden waren und in welchem sich noch etwa 12 Läuse befanden, in einen Brutschrank von 30° C.

Nach 2¹/₂ Stunden wurden beide Schalen und die Kontrolle nachgesehen. Sämtliche Läuse in der „H"- und „S"-Schale erwiesen sich als auch bei Reizung bewegungslos, während die Läuse im Kontrollgefäß sehr beweglich waren. Je 3 Läuse wurden herausgenommen und in ein kleines leeres Schälchen verbracht, in welchem sie weiterhin bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden. Die Versuchsschalen und das Kontrollgefäß kamen über Nacht wieder in den Brutschrank.

Am nächsten Morgen (nach 15 Stunden vom Beginn des Versuches an) erwiesen sich sowohl die nach 2 Stunden herausgenommenen je 3, als die verbliebenen je 7 Läuse als abgetötet.

Auch im Kontrollgefäß waren sämtliche Läuse bis auf eine ganz kleine junge, die noch lebhaft herumkroch, zusammengeschrumpft und bewegungslos.

Die eingelegten je 3 Nisse und 4 Nisse aus dem Kontrollgefäß kamen in Reagenröhrchen in den 37° Brutschrank, um das Auskriechen zu verfolgen.

In keiner der Proben, also auch nicht bei der Kontrolle, wurde späterhin ein Auskriechen von Läusen aus den Nissen festgestellt. Die mit „H" behandelten Nisse sahen dunkelbraun aus.

Versuch VI hat, trotz des fast völligen Versagens der Kontrolle nach 15 Stunden, ergeben, daß nach etwa 2½ Stunden die Wirkung von „S" und „H" gleich war.

Aus den bisher erwähnten Versuchen, die mit Läusen ein und derselben Lieferung in unmittelbarem zeitlichen Anschluß, zum Teil gleichzeitig angestellt wurden, und untereinander befriedigend übereinstimmen, läßt sich als Ergebnis zusammenfassen:

Der Holzessig erwies sich sowohl bei den Versuchen, bei welchen nur die verdunstenden Bestandteile in Wirkung treten (Versuch I und V), als bei den „Eintauch"-versuchen (III, IIIa und IIIb) dem Sabadillessig, so wie er als ein selbstbereiteter zur Verfügung stand, gegenüber unterlegen. Der Sabadillessig enthält Stoffe, die den Läusen sehr lästig zu sein scheinen —, wenn man auch die Unruhe der Läuse sofort nach Beginn der „S"-Einwirkung auf das dem Stadium der Lähmung durch das Veratrin vorausgehende Erregungsstadium zurückführen könnte — und die eine Spät- und Dauerwirkung hervorrufen. Diese Stoffe fehlen dem Holzessig, der seinerseits die im Sabadillessig nicht vorhandenen Teerbestandteile enthält.

Dieser Unterschied zwischen den beiden Mitteln tritt aber nur bei verhältnismäßig sehr kurzen Einwirkungszeiten, wie sie für die praktische Anwendung nicht in Frage kommen, in die Erscheinung.

Bei den Versuchen, die sich den Verhältnissen in der Praxis (Durchtränken der Haare, darauf Kopfumhüllung über Nacht) nähern (Versuch II, IV und namentlich VI) war von einem Unterschied in der Wirkung nichts festzustellen.

An diese erste Reihe von Versuchen schloß sich eine zweite an, die unter Mitverwendung von echtem Sabadillessig des Handels und Heranziehung von mehreren Kontrollen auf eine breitere Grundlage gestellt werden konnte und damit die Gewinnung eines tieferen Einblickes in die fraglichen Verhältnisse erhoffen ließ.

Es wurden bei jedem der folgenden Versuche VII—XII nebeneinander geprüft:

I. Acetum pyrolignosum rectifc. Ph. G. von Riedel, Berlin, der gleiche Holzessig, der zu den Versuchen I—VI der ersten Reihe benutzt worden war.

II. Der Sabadillessig, der von mir selbst am 26. 8. 19 entsprechend der Vorschrift des D. A. 5 aus Sabadillsamen hergestellt worden und bislang verwendet worden war. Bei dem Vergleich mit der unter III. folgenden echten Handelsware zeigte sich, daß er eine viel hellere Farbe als jener hatte, daß also die Extraktion der Samen, für die übrigens in jener Vorschrift keine Zeitdauer angegeben ist, wohl nicht genügend lange vorgenommen worden war.

III. Acetum Sabadillae D. A. 5, der am 3. 6. 19 von Herrn Geheimrat Rost von der „Hageda“ bezogen worden war und mir gütigst zur Verfügung gestellt wurde.

Zusammensetzung nach dem D. A. 5:

Zerquetschter Sabadillsamen	5 Teile
Weingeist	5 „
Verdünnte Essigsäure	9 „
Wasser	36 „

IV. Acetum Sabadillae artificiale, ebenfalls von der „Hageda“, das Präparat, das zu den eingangs der Arbeit gebrachten pharmakologischen Versuchen Verwendung gefunden hatte. Auf der Flasche war als Znsammensetzung angegeben:

Veratrin	0,4 kg
Tctr. Ratanhiae	3,5 „
Acd. acet.	27,0 „
Aq. ad.	400,8 „

Zur Wahl der Tict. Ratanhiae-Tinktur bei dieser Zusammensetzung mag neben ihrem Alkoholgehalt vor allem die Rolle des Farbstoffspenders — IV war äußerlich von III kaum zu unterscheiden —, geführt haben.

V. 7 % Essigsäure, aus Eisessig bereitet.

VI. Leitungswasser.

Namentlich die Flüssigkeiten unter V und VI sind es, die als Kontrollen für die spezifische Wirkung von I–IV dienen sollten. Es sei hier nochmal erwähnt, daß der Holzessig etwa 5–7 und der künstliche Sabadillessig etwa 7—8 % Essigsäure enthält, während der vorschriftsmäßige Sabadillessig nur einen Gehalt von etwa 5 % Essigsäure besitzt (vergl. S. 571).

In den Tafeln zu den Versuchen VII—XII sind folgende Zeichen verwendet:

+++ = Laus kriecht sehr lebhaft umher.
++ = „ macht deutliche spontane Bewegungen.
(++) = Spontane Bewegungen, doch sind diese sehr schwach.
+ = Bewegungen nur nach Reizung.
± = Sehr schwache Bewegungen nur nach Reizung.
(±) = Auf Reizung nur ganz wenige, nur mit der Lupe feststellbare Bewegungen.
0 = Laus auch nach stärkster Reizung bewegungslos.

Da unter den vorangegangenen Versuchen I—VI vor allem die „Eintauchversuche“ III, IIIa und IIIb die größten Unterschiede zwischen „S“ und „H“ gezeigt hatten, namentlich, wenn man die Nachwirkung der Mittel ins Auge faßt, wurde

Versuch VII vom 2. 9. 19

wiederum als Eintauchversuch gestaltet.

Zur Verfügung standen am Versuchstage nur Kleiderläuse; aus der nicht allzugroßen im Versandgefäß enthaltenen Menge wurden nur gut bewegliche Tiere herausgesucht.

Die aus den Versuchsflüssigkeiten nach verschiedenen Zeiten entnommenen Läuse wurden in reine Petrischalen verbracht und bei Zimmertemperatur möglichst häufig bis zu ihrem endgültigen Absterben beobachtet.

Da sämtliche 6 Flüssigkeiten mit je 4 Einwirkungszeiten an dem gleichen Läusematerial und unter den gleichen äußeren Bedingungen (Wärme!) geprüft werden sollten, wurden für jedes Mittel nur je 4 Läuse verwandt, weil sich bei noch mehr Läusen die Prüfung auf Bewegungen (u. U. Reizung mit Pinzette nötig!) nur unter Mithilfe mehrerer Personen, die aber nicht verfügbar waren, hätte durchführen lassen.

Die Tafel auf Seite 562/63 gibt eine Zusammenstellung über die Beobachtungen an den einzelnen Läusen.

In der Zeit bis zu 125 Minuten nach der jeweiligen Entnahme ist in Klammern die Zahl der Minuten, die seit der Entnahme verstrichen waren, beigefügt.

Tafel zu Versuch VII vom 2. 9. 19.

	Entnommen nach Min.	Nach 0—5 Minuten	6—10 Minuten	11—30 Minuten	31—60 Minuten
I Gereinigter Holzessig	5	++(2)	•	+(12) +(22)	
	10	0	0	±(18)	++(35) ++(45)
	20	0	0	0(15) +(25)	
	40	0	0	0(15) 0(25)	
II Sabadillessig (selbst bereitet)	5	++(1)		+(12)	
	10	++(2)	+(8)	++(14)	++(54)
	20	+(4)		±(14)	++(44)
	40	++(4)		+(14) ++(24)	
III Sabadillessig (Handelsware)	5	++(2)		0(12) +(13)	++(48)
	10	++(4)			++(45)
	20	0	0(10)		±(33) +(45)
	40	0	0(8)	±(13) 0(25)	
IV Künstlicher Sabadillessig	5	++(8)		+(13) ++(15) +(20)	0(31) 0(50)
	10	++(3)	++(10)	++(15) ++(30)	+(40) ++(45)
	20	++(2) ++(5)		++(15)	+(33) ++(37)
	40	0	0	+(12) ±(18)	+(32)
V 7%ige Essigsäure	5	0	+(6)	++(12) ++(20) ++(25)	++(45)
	10	+(3)	++(7)	++(15) ++(20) ++(30)	++(40)
	20	0	0	+(18) ++(30)	
	40	0	0	0(19)	
VI Leitungswasser	5	++(sofort)		++(20) ++(25)	++(45)
	10	++(„)		++(15) ++(20)	++(40)
	20	+(2) ±(5)	+(7) 0(10)	±(13) ++(17) ++(30)	
	40	0	++(10)	++(20)	

Wenn man auch die individuell verschiedene Widerstandsfähigkeit der einzelnen Läuse berücksichtigen muß, so geht aus der Tafel doch folgendes hervor:

Eine wirkliche Abtötung durch das Eintauchen, ohne nachträgliches Erwachen aus dem Scheintode, wurde nur bei dem Holzessig und der 7%igen Essigsäure und zwar erst nach 40 Minuten langer Einwirkung beobachtet. Bei dem echten Sabadillessig (III) zeigte sogar die 40 Minuten lang untergetauchte Laus ein Wiedererwachen.

Ohne jeden Einfluß bei jeder der angewandten Zeiten war der selbstbereitete Sabadillessig (II), der sich — ähnlich wie der künstliche Sabadillessig (IV) — in seiner Wirkung nur dadurch vom Leitungswasser unterschied, daß die mit ihm „behandelten" Läuse nach 6 bezw. 21 Stunden endgültig tot waren, während die „Wasserläuse" noch 44 und 52 Stunden am Leben blieben.

Eintauchversuch. Kleiderläuse.

weiteren

61—90 Minuten	91—120 Minuten	120—150 Minuten	6 Stunden	21 Stunden	31 Stunden	44 Stunden	52 Stunden	74 Stunden	98 Stunden
		++(125)	++	++	++	++	+++	+	0
	++(120)		++	++	++	0	0	0	0
	++(110)		++	+	0	0	0	0	0
0 (90)			0	0	0	0	0	0	0
+(61)		++(124)	+	0	0				
	± (119)		(±)	0	0				
	± (109)		(±)	0	0				
++(89)			+	(±)	0				
		++(123)	(++)	0	0	0			
	+(118)		(++)	+	+	0			
	+(108)		(++)	(±)	0	0			
++(88)			(++)	0	0	0			
		± (122)	++	0	0				
	++(117)		++	(±)	0				
	0 (107)		0	0	0				
++(82)			++	0	0				
		++(121)	++	(++)	0	0	0	0	0
	++(116)		++	++	++	++	+++	++	0
	++(106)		++	++	0	0	0	0	0
0 (86)			0	0	0	0	0	0	0
		++(120)	++	+++	+++	++	+++	0	
	++(115)		++	+++	+++	+	0	0	
	± (105)		0	0	0	0	0	0	
++(85)			++	+++	+++	++	0	0	

Auf weitere Einzelheiten sei hier, da zur Fragestellung nicht unmittelbar gehörig, nicht eingegangen. Jedenfalls hat sich im Versuch VII der Holzessig dem echten Sabadillessig bei 20 Minuten langer Einwirkung als gleichwertig, bei 40 Minuten langer als überlegen erwiesen, ebenso bei 40 Minuten langer Einwirkung dem künstlichen Sabadillessig (IV).

Beachtenswert erscheint die starke Wirksamkeit der 7 %igen Essigsäure (V), die bei 20 Minuten langem Eintauchen an lähmender, in Scheintod versetzender Wirkung dem echten Sabadillessig gleichkam, bei 40 Minuten langer Einwirkung ihn übertraf.

Versuch VIII vom 2. 9. 19.

Am gleichen Tage wurde noch ein Versuch nach der von Busson („Zur Frage der Entlausung im Felde", Wiener Klin. Wochenschr 1915, S. 674) bei seinen „Eprouvettenversuchen" angewandten Technik ausgeführt. Diese besteht kurz darin, daß auf den Boden der Gefäße das

zu prüfende Mittel eingefüllt und dann ein Bausch entfetteter Watte bis zu einer bestimmten Entfernung vom Flüssigkeitsspiegel eingeschoben wird, auf den die Läuse verbracht werden.

Bei der Anstellung des Versuches wurde besonders darauf geachtet, daß gleich weite Gefäße genommen wurden und der Wattebausch bei gleicher Dicke und Größe in gleicher Höhe über dem Flüssigkeitsspiegel saß.

Bei diesem Versuche, s. Tafel, verhielten sich I, II, III und V im ganzen völlig gleich, dagegen trat ein deutliches Versagen des künstlichen Sabadillessigs (IV) in die Erscheinung.

Tafel zu Versuch VIII vom 2. 9. 19.

Dampfversuch nach Busson.

Um 1 Uhr 20 Minuten je 2 Kleiderläuse in die Versuchsröhrchen eingelegt.

	Nach									
	90 Min.	340 Min.	20 Stdn.	27 Stdn.	29 Stdn.	44 Stdn.	53 Stdn.	68 Stdn.	92 Stdn.	116 Stdn.
I Holzessig	+ + + + + +	+ + (+)	(±) 0	0 0	herausgenommen	0 0				
II Sabadillessig, selbst bereitet	+ + + + + +	+ + + +	0 0	0 0	desgl.	0 0				
III Sabadillessig, Handelsware	+ + + + + +	(±)[1] (±)[1]	0 0	0 0	desgl.	0 0				
IV künstlicher Sabadillessig	+ + + + + +	+ +[2] +[3]	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	(+ +)[5] +	+ + + 0	0[6]	
V 7 %ige Essigsäure	+ + + + + +	+ + + +	0[4] 0	0 0	herausgenommen	0 0				
VI Leitungswasser	+ + + + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	(+ +)[5] (+ +)[5]	+ + + 0	(±)	0

Als Erklärung für die völlige Unwirksamkeit unter der gewählten Versuchsbedingung, bei welcher nur die aufsteigenden Dämpfe zur Wirkung gelangen können,

[1]) Beide Läuse liegen auf dem Rücken. Auf Reizung treten Bewegungen ein, die aber sehr bald aufhören.

[2]) Saß auf der Unterseite des oberen Pfropfens.

[3]) Klettert nach Reizung auf den Wattefasern umher.

[4]) Beide in die Flüssigkeit herabgefallen; die eine am Grunde liegend, die andere schwimmend.

[5]) Wird auf Reizung sehr beweglich.

[6]) Ist in die Flüssigkeit gefallen.

muß man angesichts der guten Wirkung der 7%igen Essigsäure daran denken, daß im künstlichen Sabadillessig die Verdampfung der in ihm ebenfalls zu 6,8—7% (vergl. Tabelle auf Seite 571) enthaltenen Essigsäure durch den Zusatz der Ratanhiatinktur herabgesetzt oder verhindert wird. Da der Alkoholgehalt der Ratanhiatinktur hieran kaum Schuld haben kann, käme vielleicht eine Bindung mit der Gerbsäure der Ratanhiawurzel in Betracht.

Mit der in der Praxis beobachteten mangelhaften Wirkung dieses Ersatzpräparates stimmt der Ausfall des Versuches gut überein: bei dem Durchtränken der Haare mit nachfolgender Kopfeinhüllung kann es sich nicht nur um ein Eintauchen handeln, sondern die Dämpfe des Mittels müssen einen großen Teil der Wirkung übernehmen.

Versuch IX, vom 3. 9. 19,

war wiederum ein Eintauchversuch. (s. Tafel Seite 566.)

Bei den Entnahmen nach 120 Minuten wurde stets als Laus „A" eine sehr kleine, als Laus „B" eine mittelgroße und als Laus „C" eine sehr große Laus herausgesucht, während sich bei Entnahmen nach etwa 3 Stunden (189—192 Minuten) dieser Unterschied nicht durchführen ließ, sondern die Läuse D, E, F Tiere mittlerer Größe waren. Die entnommenen Läuse kamen bei diesem Versuch nicht wie bei den bisherigen in Petrischalen, sondern wurden in mit Watte verschlossenen Reagensröhrchen verbracht und mit der Lupe beobachtet. Die Reizung erfolgte durch starkes Schütteln der Röhrchen und Herumwerfen der Läuse. In gleicher Weise wurde bei allen Entnahmeproben der sämtlichen folgenden Versuche vorgegangen.

An den nach 2 Stunden entnommenen Läusen hat sich zwischen dem Holzessig (I) und dem echten Sabadillessig (III), kein Unterschied gezeigt; bei allen aus der Betäubung erwachten Tieren konnten nur ganz schwache Lebensäußerungen festgestellt werden. Wenn man darauf, daß die A-Laus bei III etwas länger Lebenszeichen von sich gab, als die 3 Läuse von I, ein Gewicht legen wollte, so würde das nur zugunsten des Holzessigs sprechen; doch sind derartig feine Unterschiede sicherlich durch individuelle Verhältnisse bedingt.

Bei dem selbstbereiteten Sabadillessig (II) und dem künstlichen Sabadillessig (IV) trat bei je 2 Läusen nach etwa 1 Stunde fast völlige Erholung ein.

Die 7%ige Essigsäure (V) hat wiederum sehr günstig gewirkt.

Bei den Entnahmen nach 3 Stunden ist nur ein geringfügiger Unterschied zu ungunsten von I gegenüber III infolge des Verhaltens der F-Laus festzustellen. Diese Laus war bei der Beobachtung nach 15 Stunden anfänglich für tot gehalten worden; erst nach längerer stärkster Reizung zeigten sich schwache Lebensäußerungen.

II steht hinter den übrigen Mitteln wiederum etwas zurück (E- und P-Läuse!).

Versuch IX hat also, wie Versuch VII (von 10 Minuten ab), ergeben, daß der Holzessig dem echten Sabadillessig an Wirksamkeit im ganzen gleichkommt.

Tafel zu Versuch IX vom 3. 9. 19.

Ganz frische, äußerst bewegliche Kleiderläuse. „Eintauch“-Versuch.

(Darm! bedeutet: Mit der Lupe sichtbare Darmbewegungen.)

Mittel	Entnommen nach Minuten	Laus	Sofort nach Entnahme	Nach 2—20 Min.	Nach 59—74 Min.	Nach 18 Stunden	Nach 25 Stdn.	Nach 42 Stdn.	Nach 68 Stdn.
I Holzessig	120	A	0	0 (19)	0 (74)	0	0	0	
	120	B	0	0 (19)	0 (74)	0(±) schwache Fühlerbewegungen	0	0	
	120	C	0	0 (19)	0 (74)	(±) schwache Fühler- und Beinbewegungen	(±)	0	
II Sabadillessig, selbstbereitet	120	A	0	Darm![1]) (16)	++ (71)	(+) schwache Beinbewegungen	(±)	0	
	120	B	0	„ (16)	++ (71)	(+) desgl.	(±)	0	
	120	C	0	„ (16)	Darm!(71)	0	0	0	
III Sabadillessig, Handelsware	120	A	0	0 (13)	Darm! (68)	(±) zitternde Beinbewegungen	(±)	(±)	0
	120	B	0	0	0 (68)	0	0	0	0
	120	C	0	0	0 (68)	0	0	0	0
IV Sabadillessig, künstlich	120	A	0	++ (15)	++ (65)	(++) aktive Beinbewegungen	(±)	0	0
	120	B	0	0 (15)	0 (65)	0	0	0	0
	120	C	0	0 (15)	++ (65)	+ schwach aktive Beinbewegungen	(±)	(±)	0
V 7%ige Essigsäure	120	A	0	0 (12)	0 (62)	0	0	0	
	120	B	0	0 (12)	0 (62)	+	(±)	0	
	120	C	0	0 (12)	0 (62)	0	0	0	
VI Leitungswasser	120	A	++	++(2) ++(9)	++ (59)	++ auf Schütteln +++	++	++	0
	120	B	0	++(2) ++(9)	++ (59)	(++) „ „ +++	++	++	0
	120	C	0	0(2) Darm!(9)	++ (59)	++ „ „ +++	++	++	0

Mittel	Entnommen nach Minuten	Laus	Sofort nach Entnahme	Nach 15 Stunden	Nach 22 Stunden	Nach 39 Stdn.	Nach 65 Stunden	Nach 89 Stdn.
I Holzessig	189	D	0	0	0	0	0	
	189	E	0	0	0	0	0	
	189	F	0	(±)	(±)	(±)	0	
II Sabadillessig, selbstbereitet	186	D	0	0	0			
	186	E	0	(±) g. schwache Beinbeweg.	0			
	186	F	0	(±) „ „ „	0			
III Sabadillessig, Handelsware	183	D	0	0[1])				
	183	E	0	0[1])				
	183	F	0	0[1])				
IV Sabadillessig, künstlich	192	D	0	0				
	192	E	0	0				
	192	F	0	0				
V 7%ige Essigsäure	190	D	0	0				
	190	E	0	0				
	190	F	0	0				
VI Leitungswasser	189	D	0	+++	auf Schütteln +++	+++	0	0
	189	E	0	(++) auf Schütteln +++	+++	+++	++ (auf Schütteln)	0
	189	F	0	(++) „ „ +++	+	0	0	0

[1]) Braunfärbung!

Versuch X vom 3. 9. 19 war wieder ein Umschlagversuch.

Die aus dem Asyl für Obdachlose überbrachten, in stärkstem Grade verfilzten und mit eitrig-schmierigen Hautborken verklebten Haare mit Läusen und Nissen waren tropfnaß. Spätere Erkundigung ergab, daß sie erst abgeschnitten worden waren, nachdem die betreffende Person schon im Bade war. Dem Gefäß entströmte ein ekelerregender Geruch. Die Läuse waren schon bei Eintreffen der Sendung verhältnismäßig wenig beweglich.

Es wurden möglichst gleichgroße Haarbüschel in den Umschlag gelegt.

Der Umschlag bestand diesmal, wie auch beim nächsten Versuch, aus doppelten Leinwandläppchen von 18 cm im Geviert, die, mit je 14 cm^3 Flüssigkeit getränkt, etwa briefumschlagartig zusammengefaltet wurden. Die Schalen mit den Umschlägen wurden in den 30°-Brutschrank gestellt. Die Besichtigung der entnommenen Läuse erfolgte für alle Proben zur gleichen Zeit. Daraus ergeben sich, entsprechend den verschiedenen Entnahmezeiten, die verschiedenartigen, jedoch gleichmäßig angeordneten Befundeintragungen in der Tafel auf Seite 568.

Bei dem Versuche ergab sich, daß die Mittel I—V Abtötung der Läuse bewirkten.

Wie die Kontrolle mit Leitungswasser zeigt, genügte schon eine 19stündige Einwirkung des einfachen feuchten Umschlages, um alle Läuse abzutöten. Etwa 30 Stunden nach dem Beginne des Versuches waren übrigens auch im Versandgefäß alle Läuse unbeweglich geworden.

Das Nissematerial war infolge der hochgradigen Verschmutzung der Haare für die Beobachtung äußerst ungünstig. Außerdem zeigte sich bei Lupenbetrachtung, daß so gut wie alle Nisse schon durch Auskriechen der Läuse entleert waren. Daher konnte bei diesem Versuche an Nissen kein verwertbares Ergebnis erzielt werden, indem in keiner Probe von entnommenen Nissen ein Auskriechen zu beobachten war. Die Befunde an den Nissen sind deshalb in der Tafel nicht wiedergegeben.

Der weitere

Umschlagversuch XI vom 11. 9. 19 (s. Tafel Seite 569)

konnte mit sehr gutem, etwa 24 Stunden altem Material von läuse- und nissebesetztem Kopfhaar, in welchem sich die Läuse als äußerst beweglich erwiesen und zahlreiche noch uneröffnete Nissen enthalten waren, angestellt werden. Der Versuch lieferte denn auch ein sehr klares eindeutiges Ergebnis.

In Spalte I der Tafel sind bei den Angaben über die Entnahme und über das Verhalten der Läuse die betreffenden Zeiten der Entnahme und die Zeiträume nach der Entnahme in Klammern beigefügt. Diese Zahlen gelten mit geringen Unterschieden auch für sämtliche entsprechenden Eintragungen in den Spalten II—VI.

Bei der nach 10—14 Minuten vorgenommenen Nachschau wurden nur im Umschlag mit dem echten Sabadillessig (III) sämtliche Läuse bewegungslos gefunden, ein Zeichen dafür, daß die lähmende Wirkung auf Läuse bei diesem Mittel am raschesten eintritt.

Bei dem Holzessig (I) waren zwar noch einige Läuse schwach beweglich, doch war keine aus der innersten Schicht des Umschlages in die äußere hervorgekrochen, wie dies bei allen anderen hier geprüften Stoffen der Fall war.

Dieser Befund dürfte für die praktische Verwendung nicht ohne Bedeutung sein.

Was die weitere Einwirkung auf Läuse betrifft, so ergibt sich aus dem Versuch deutlich, daß nach $1^1/_2$stündiger Umschlagbehandlung der künstliche Sabadillessig (IV) und die 7%ige Essigsäure (V) den übrigen Mitteln etwas nachstehen. So kurze Zeiten kommen für die Praxis natürlich nicht in Betracht. Schon bei der $3^1/_2$ und selbstverständlich bei der 23stündigen Einwirkung ist wiederum an den Mitteln I—V kein Unterschied in der Wirkung auf Läuse feststellbar.

Versuch X vom 3. 9. 19.

„Umschlag"-Versuch. Kopfläuse an Haaren (2. 9. 19 abends entnommen). Haare naß, stärkst verfilzt.

Mittel	Bei Nachsehen nach 20 Minuten	Entnahme nach	Nach weiteren n-Stunden									
			$2^1/_2$	10	19	20	$25^1/_2$	$26^1/_2$	33	43	44	65
I ger. Holzessig	Eine Laus beweglich, alle andern bewegungslos	75 Min.				alle 0		alle 0				
		$2^1/_2$ Std.			alle 0		alle 0					
		19 Std.	alle 0	alle 0								
II Sabadillessig, selbst bereitet	desgl.	75 Min.				alle 0		alle 0				
		$2^1/_2$ Std.			alle 0		alle 0					
		19 Std.	alle 0	alle 0								
III Sabadillessig, Handelsware	Alle Läuse bewegunglos	75 Min.				alle 0		alle 0				
		$2^1/_2$ Std.			alle 0		alle 0					
		19 Std.	alle 0	alle 0								
IV künstlicher Sabadillessig	desgl.	75 Min.				alle 0		alle 0				
		$2^1/_2$ Std.			alle 0		alle 0					
		19 Std.	alle 0	alle 0								
V 7 %ige Essigsäure	Mehrere Läuse beweglich	75 Min.				alle 0		alle 0				
		$2^1/_2$ Std.			alle 0		alle 0					
		19 Std.	alle 0	alle 0								
VI Leitungswasser	Mehrere Läuse beweglich, doch viele bewegungslos	75 Min. [1]				1:(++) 3:++ (nach Schütteln) 7:0		3:+ nach längerem Schütteln nunmehr 2:++ die übrigen 0			1:(±) 10:0	alle 0
		$2^1/_2$ Std. [1]			3 von 9 Läusen auf Schütteln +++ 6:0		3:++ 5:+ 1:0			alle 0		
		19 Std.	alle 0	alle 0 [2]					alle 0			

[1] Einige sehr beweglich. — [2] Zur gleichen Zeit im Versandgefäß ebenfalls keine bewegliche Laus mehr zu finden.

Tafel zu Versuch XI vom 11. 9. 19

„Umschlag"-Versuch. Haare mit Kopfläusen und reichlichen Nissen. Abgeschnitten am 10. 9. 19 10^{00} Uhr, Versuchsschalen am 11. 9. 19 10^{55} Uhr auf 37° gestellt; nach erster Entnahme ab 12^{10} Uhr bei 30° gehalten.

Mittel	Läuse in den Umschlag eingelegt am 11. 9. 19	Bei Nachschau nach 11—14 Min.	Entnommen nach	Befunde an den entnommenen: Läusen (zu 6—10 Stück entnommen) 11. 9. 19		12. 9. 19		13.9.19	Nissen: Zahl der am . . . ausgekrochenen Läuse					Insgesamt ausgekrochen bis zum 9. 10. 19
			Stunden	12^{30}	2^{30}	9^{30}	4^{00}	10^{30}	16. 9.	17. 9.	18. 9.	19. 9.	20. 9.	
I ger. Holzessig	10^{29}	Einige noch schwach beweglich (keine Laus hervorgekrochen)	1½ (11^{55})	0 (35 Min. nach d. Entnahme)	0 (155 Min.)	0 (21½ Std.)	0 (28 Std.)	0 (47 Std.)	—	1	—	2	—	3
			3½ (2^{00})		0 (30 Min.)	0 (19½ Std.)	0 (26 Std.)	0 (45 Std.)	—	—	—	1	—	1
			23 (12. 9. 19 9^{30})			0 (sofort)	0 (6½ Std.)	0 (25½ Std.)	—	—	—	—	—	0
II Sabadillessig, selbst bereitet	10^{31}	Einige ganz wenig beweglich (6 Läuse hervorgekrochen)	1½	0	0	0	0	0	5	3	—	—	8	8
			3½		0	0	0	0	14	11	3	—	—	28
			23			0	0	0	5	3	—	—	—	8
III Sabadillessig, Handelsware D. A. B. 5	10^{32}	Alle bewegungslos	1½	0	0	0	0	0	2	—	1	—	—	3
			3½		0	0	0	0	—	—	—	1	—	1
			23			0	0	0	—	—	—	—	—	0
IV künstlicher Sabadillessig	10^{33}	Noch beweglich (3 Läuse hervorgekrochen)	1½	teilweise ++	teilweise ++	1: ++ alle anderen 0	0	0	6	1	1	3	—	11
			3½		0	0	0	0	8	1	—	2	—	11
			23			0	0	0	3	1	—	—	—	4
V 7%ige Essigsäure	10^{34}	Vereinzelte beweglich (2 Läuse hervorgekrochen)	1½	0	einige +	1: +++ die anderen 0	1: +++ die anderen 0	0	3	—	2	—	—	5
			3½		0	0	0	0	8	5	2	5	3	23
			23			0	0	0	5	—	3	2	—	10
VI Leitungswasser	10^{35}	Alle beweglich (6 Läuse hervorgekrochen)	1½	alle +++	alle +++	4: ++ 4:0	3: +++ 5:0	alle 0	9	3	—	—	—	12
			3½		alle +++	1: +++ 1: + 4:0	1: ++ 5:0	alle 0	10	5	3	2	—	20
			23			einige ++	1: +++ 9:0	alle 0	5	11	—	—	—	16

Unterschiede und zwar von praktisch großer Bedeutung zeigen sich jedoch bei der Beeinflussung der Nisse. Hier genügte sowohl bei dem Holzessig (I) wie bei dem echten Sabadillessig (III) ein 1½ und ein 3½stündiger Aufenthalt im Umschlage nicht zur Abtötung aller Nisse. Dagegen war nach 23stündiger Einwirkung bei beiden Mitteln eine Abtötung sämtlicher Nisse eingetreten und zwar nur bei diesen beiden Mitteln. Es mag ein Zufall sein, daß die endgültigen Zahlen der ausgekrochenen Läuse bei beiden Mitteln genau übereinstimmen. Jedenfalls spricht das Ergebnis des Versuches klar für Gleichwertigkeit des Holzessigs mit dem echten Sabadillessig.

Der selbstbereitete Sabadillessig (II) und der künstliche Sabadillessig (IV), aber ebenso auch die 7½%ige Essigsäure, die sich gegenüber Läusen stets als den übrigen geprüften Mitteln gleichwertig erwiesen hatte, versagten gegenüber Nissen.

Damit ist wiederum, wie schon in Versuch VIII, eine Bestätigung für die bei der praktischen Anwendung beobachtete mangelhafte Wirkung des Ersatzpräparates gegeben.

Im letzten

Versuch XII vom 18. 9. 19

wurde die Einwirkung der Mittel auf Nisse geprüft, die in die Flüssigkeiten eingetaucht waren.

Damit nicht die mit den Nissen besetzten Haare an die Oberfläche aufsteigen konnten und so einige Nisse nicht von der Flüssigkeit umgeben sein würden, wurde durch teilweise in die Flüssigkeit hineingeschobene Wattepfröpfe bewirkt, daß alle Nisse untergetaucht blieben.

Das Ergebnis des Versuches (s. Tabelle S. 571) stimmt mit dem von Versuch XI insofern gut überein, als wiederum der künstliche Sabadillessig und die 7%ige Essigsäure versagten; ein Unterschied ist nur darin gegeben, daß der selbstbereitete Sabadillessig ebenso wirksam war, wie der Holzessig und der echte Sabadillessig. Diese, gegenüber der bei Versuch XI beobachteten, erhöhte Wirkung dürfte damit zusammenhängen, daß das Untertauchen eine energischere Beeinflussung darstellt.

Jedenfalls ist auch bei Versuch XII ebenso eine Gleichwertigkeit von I und III festgestellt, wie das Versagen des künstlichen Sabadillessigs (IV) erneut in die Erscheinung trat.

Die ungenügende Einwirkung des künstlichen Sabadillessigs (IV) auf die Nisse kann im vorliegenden Versuche nicht auf die aus Versuch VIII geschlossene geringere Dampfwirkung zurückgeführt werden.

Auch Unterschiede in der Stärke des Veratringehaltes kommen nicht in Betracht, da der Veratringehalt des echten Sabadillessigs des D. A. 5 sich aus dem Umstande, daß der Sabadillsamen etwa 1% Veratrin enthält, zu etwa 0,1% wie im Ersatzpräparat berechnet. Hinsichtlich der Art der Alkaloide dürfte ebenfalls kein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Präparaten bestehen. Der Sabadillsamen enthält nach Angaben in der Literatur außer dem amorphen Alkaloid Veratrin auch noch das amorphe Alkaloid Cevadillin und die kristallinischen Alkaloide Cevadin (auch als kristallisiertes Veratrin bezeichnet), Sabadinin und Sabadin. Das „Veratrin“ der Apotheken ist ein Gemenge dieser Alkaloide.

Tafel zu Versuch XII vom 18. 9. 19.

Nisse von Kopfläusen. Eintauch-Versuch.

Zahl der am 11. 10. 19 ausgekrochenen Läuse.

Nisse eingetaucht	Mittel					
	I ger. Holzessig	II Sabadillessig, selbst bereitet	III Sabadillessig, Handelsware	IV künstlicher Sabadillessig	V 7%ige Essigsäure	VI Leitungswasser
2 Stunden	0	0	0	6	7	7
23 Stunden	0	0	0	6	2	16

An einem verschiedenen Gehalt an Essigsäure kann der Unterschied in der Wirkung ebensowenig liegen. Wie aus der nachfolgenden Tabelle, die z. T. aus den im D. A. 5 vorhandenen Angaben berechnet ist, hervorgeht, ist der Essigsäuregehalt des Ersatzpräparates ein höherer, als der des echten vorschriftsmäßigen Sabadillessigs. In der Mitte zwischen beiden steht derjenige des rohen und des gereinigten Holzessigs.

	Mittel	Gehalt in Hundertteilen		
		an Essigsäure	an Weingeist	an Veratrin
I	ger. Holzessig	5—5,4	?	—
II	selbstbereiteter Sabadillessig . .	4,8	9,0	?
III	Sabadillessig D. A. 5	4,8	9,0	0,1
IV	künstlicher Sabadillessig	6,85 [1])	0,8 [1])	0,1
V	7%ige Essigsäure	7,0	—	—
	roher Holzessig	mindestens 6,0	?	—

Die Tabelle weist aber doch einen nicht unbeträchtlichen Unterschied zwischen III und IV auf, nämlich im Alkoholgehalt. Inwieweit dieser Unterschied von ausschlaggebender Bedeutung ist, darüber mehr als Vermutungen aufzustellen, dürfte ohne experimentelle Grundlage schwierig sein. Es sei aber ausdrücklich auf ihn hingewiesen[2]).

Für das Versagen des selbstbereiteten Sabadillessigs (II) gegen Nisse im Versuch XI kann wohl die nicht genügend lang durchgeführte Extraktion des Sabadillsamens, worauf schon einmal hingewiesen wurde, herangezogen werden.

Die Versuche XI und XII haben übereinstimmend und auch mit den vorhergehenden Versuchen im Einklang stehend ergeben, daß der gereinigte Holzessig dem echten Sabadillessig an Wirkung auf Läuse und

[1]) Für das auf S. 561 erwähnte Präparat, mit dem die pharmakologischen orientierenden Versuche ausgeführt wurden, sind die entsprechenden Zahlen für Essigsäure bezw. Weingeist: 7,0 bezw. 0,6.

[2]) Es wäre möglich, daß der Alkoholgehalt Einfluß auf den Lösungszustand des Veratrins usw. hat (kolloide oder molekulardisperse Lösung). Ferner ist an die Beziehung des Alkohols zu lipoiden Substanzen (Benetzbarkeit der Eier) zu denken.

deren Eier gleichkommt. Beide Mittel haben einen ungefähr gleichen Gehalt an Essigsäure. Bei dem Holzessig kommt zur Wirkung der Essigsäure diejenige der verschiedenen anderen in ihm noch enthaltenen Destillationsprodukte, vor allem der Teerbestandteile (vielleicht auch des Methylalkohols, Acetons) hinzu; bei dem Sabadillessig sind es die in ihm enthaltenen Alkaloide, die, namentlich das Veratrin, ihm eine fast spezifische Wirkung verleihen.

Durch die Verschiedenheit der beiden Mittel sind auch gewisse Unterschiede in der Wirkungsweise bedingt. Diese treten jedoch nur bei ganz kurzer, an sich völlig ungeeigneter, Einwirkungsdauer in die Erscheinung und bestehen, wie sich aus den vorgenommenen Versuchen, namentlich denen der ersten Reihe ergibt, in folgendem: Durch Holzessig „angegiftete" Läuse zeigen, wenn sie aus dem anfänglichen Scheintod einmal erwacht sind, kräftigere Lebensäußerungen und eine im allgemeinen längere Lebensdauer als durch Sabadillessig ungenügend beeinflußte Läuse. Bei den letzteren machten sich im allgemeinen nur schwächere Lebensäußerungen und ein etwas frühzeitigeres Absterben bemerkbar. Dieses Verhalten ist ein Ausdruck für die lähmende Wirkung des Veratrins.

Bei Einwirkungsdauern, die den in der Praxis vorkommenden entsprechen, und unter Versuchsbedingungen, die diejenigen in der Praxis soweit nachzuahmen suchten, als es im Laboratorium möglich ist, entziehen sich diese Unterschiede mehr oder weniger der Beobachtung und es tritt als Endergebnis eine völlige Gleichwertigkeit in der Wirkung beider Mittel auf Läuse wie auf Nisse zutage.

Nachdem auch bei den eingangs kurz mitgeteilten orientierenden pharmakologischen Versuchen festgestellt wurde, daß dem rohen Holzessig keine besonderen hautreizenden Eigenschaften zukommen — dem gereinigten Holzessig also mindestens ebensowenig —, darf der Holzessig hinsichtlich seiner Wirkung auf Läuse und Nisse als ein guter Ersatz für den vorschriftsmäßigen, gegenwärtig nicht mehr beziehbaren Sabadillessig bezeichnet werden.

Dahlem, Dezember 1919.

Ende des 3. Heftes.
Abgeschlossen am 24. September 1920.

ARBEITEN

AUS DEM

REICHSGESUNDHEITSAMTE

(Beihefte zu den Veröffentlichungen des Reichsgesundheitsamtes)

ZWEIUNDFÜNFZIGSTER BAND

VIERTES (SCHLUSS-) HEFT

MIT 1 TAFEL

BERLIN

VERLAG VON JULIUS SPRINGER

1920

(Ausgegeben im Dezember 1920)

Inhalts-Verzeichnis

Fortsetzung auf Seite 3.

Die Empfindlichkeit von Ratte und Maus gegen Trichineninfektion[1]).

Von

Dr. Hans Gläser,

früherem wissenschaftlichen Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Die Frage, ob die Ratte oder das Schwein der eigentliche Arterhalter der Trichine sei, hat bereits unter den ersten Untersuchern der Trichinen zu lebhaften Erörterungen Anlaß gegeben. Leuckart bekennt sich zu der sogenannten „Rattentheorie" und bekämpft die Anschauung Zenkers, der das Schwein als den eigentlichen und ursprünglichen Trichinenträger erklärt. Leuckart faßt seine Anschauung in folgenden Worten zusammen: „Es erhellt aus diesen Tatsachen, daß es der Zwischenkunft der Schweine nicht notwendig bedarf, um die Existenz der Trichinen zu erhalten."

Gegen diese Auffassung hat sich neuerdings Stäubli (1909, 1911) gewandt und auf Grund seiner experimentellen Untersuchungen festgestellt, „daß wir den eigentlichen Generationserhalter im Schweine suchen müssen und daß die Ratten mehr nur die Rolle von Zwischenträgern spielen". Stäubli konnte nachweisen, daß bei Fütterung mit stark trichinigem Rattenfleisch die Ratten sehr leicht an Darmtrichinose zugrunde gehen. Da nun Darmtrichinen nicht zu infizieren vermögen, so wird in vielen Fällen beim Übergang von Ratte zu Ratte die Generationsfolge der Trichinen unterbrochen. Die Ratte erweist sich demnach als ungeeignet für die Arterhaltung der Trichine. Diesen Folgerungen widersprach Ströse (1909) und behauptete auf Grund seiner Versuche, daß „für die Ansicht, die Ratten seien für die Generationserhaltung der Trichinen ohne praktische Bedeutung, die Prämisse fehlt". Stäubli hat gegen diesen Satz Verwahrung eingelegt und ausgeführt, er habe nicht gesagt, daß die Ratten für die Generationserhaltung der Trichinen ohne praktische Bedeutung seien — er habe sogar ausdrücklich betont, daß gelegentlich wohl eine Ratte nach Aufnahme von trichinigem Rattenfleisch am Leben bleiben könne — aber früher oder später werde infolge der hohen Empfindlichkeit der Ratte gegenüber der Darmtrichinose die Generationsfolge der Trichinen beim Übergang von Ratte zu Ratte

[1]) Die vorliegende Arbeit habe ich während meiner Ausreise nach Kamerun im Mai 1914 und in den ersten Monaten meines Aufenthalts in Kamerun niedergeschrieben. Infolge der Kriegsereignisse und meiner späteren Internierung in Spanien konnte sie bisher nicht veröffentlicht werden.

unterbrochen. An einer Reihe von Versuchen konnte Stäubli erneut nachweisen, daß schon recht geringe Mengen sehr stark trichinigen Rattenfleisches den Tod der damit gefütterten Ratten in der Phase der Darmtrichinose herbeiführen können. Die Ratten starben wenige Tage (2—11) nach der Fütterung.

Ähnliche Erfahrungen hatten Rissling (1910) und Raebiger (1911) gemacht. Rissling weist hin auf „die große Verlustziffer . . . . an bald nach der Fütterung (meist 2—4 Tage) eingegangenen Ratten". Die Ergebnisse Risslings sind um so bemerkenswerter, weil er mit trichinigem Schweinefleisch gearbeitet hat. Raebiger hatte bei Beginn seiner Versuche 70,6% Todesfälle bei Ratten infolge von Darmtrichinose. Später nahm er die Fütterungen in Zwischenräumen von 2—8 Tagen vor und konnte dadurch ein Sinken der Prozentzahl herbeiführen. Trotzdem starben von sämtlichen 111 Ratten 62 Stück oder 56% an Darmtrichinose. Von diesen hatten 71 Rattenfleisch bekommen und 40 Schweinefleisch. Die entsprechenden Prozentzahlen für die Todesfälle an Darmtrichinose sind 69,0 und 32,5. Einmal ging Raebiger sogar ein zu einem neuen Versuch herangezogener Satz Ratten nach der Fütterung mit trichinösem Fleisch vollständig infolge Darmtrichinose zugrunde. Wie sind nun diesen übereinstimmenden Befunden von Stäubli, Rissling und Raebiger gegenüber die Angaben Ströses zu erklären? Einmal dadurch — wie bereits Stäubli ausgeführt hat — daß Ströse Schweinefleisch an Stelle von Rattenfleisch verwendet hat, und dann, weil er nicht in einmaliger Dosis, sondern während einer Reihe fortlaufender Tage gefüttert hat. Auch Raebiger hatte, wie oben erwähnt, weniger Todesfälle bei Fütterung mit Schweinefleisch, und er konnte die Zahl der Todesfälle herabsetzen, indem er in größeren Zwischenräumen fütterte. Beide Faktoren summieren sich bei Ströse. Trotzdem starben bei seinen Versuchen zwei von den sechs infizierten Ratten bereits ½ und 1½ Tage nach der letzten Fütterung. Ströse glaubt, sie seien eingegangen, weil sie die Gefangenschaft nicht vertrugen. Nach meinen Erfahrungen glaube ich nicht fehlzugehen, wenn ich als Todesursache für beide Tiere Darmtrichinose annehme. Ich komme auf diesen Punkt später noch einmal zurück.

Eigene Untersuchungen.

Die Versuche, über deren Ergebnisse im folgenden berichtet werden soll, wurden kurze Zeit nach Erscheinen der Stäublischen Arbeit begonnen. Sie mußten infolge anderer Arbeiten des Verfassers mehrfach längere Zeit unterbrochen werden und gelangten daher erst im März 1914 zum Abschluß. Sie wurden auf Veranlassung des Direktors der Veterinärabteilung des Reichsgesundheitsamtes, Geh. Regierungsrats Prof. Dr. v. Ostertag unternommen. Neben einer Nachprüfung der für die Praxis sehr wichtigen Ergebnisse Stäublis sollte der Versuch gemacht werden, die Dosis an trichinigem Material festzustellen, die zur Herbeiführung des Todes infolge Darmtrichinose notwendig ist. Diese Dosis soll der Kürze halber im folgenden als „Dosis mortalis" bezeichnet werden.

Die Anordnung der Versuche mußte in der Weise erfolgen, wie sie Stäubli getroffen hatte, um von Anfang an Einwänden zu begegnen, wie sie der genannte

Forscher Ströse gemacht hatte. Deshalb ergab sich als erste Aufgabe die Beschaffung von trichinigem Rattenfleisch.

Bereits bei diesen Vorbereitungen für die eigentlichen Versuche wurde die Zahl der verabreichten Trichinen möglichst genau festgestellt. Diese Tatsache und die bemerkenswerten Ergebnisse der Fütterungen mögen die Ausführlichkeit rechtfertigen, mit der die Vorversuche im folgenden geschildert werden.

Versuch 1.

Am 5. Dezember 1911 wurden 5 zahme Ratten, 2 bunte (BR 1 und BR 2) und 3 weiße (WR 1, 2 und 3) mit trichinigem Schweinefleisch gefüttert. Das Fleisch stammte vom Hygienischen Institut der Berliner tierärztlichen Hochschule und war stark gesalzen. Es war so fest, daß man mit dem Rasiermesser dünne Scheiben abschneiden konnte, die durchsichtig genug waren, um eine genaue Zählung der darin enthaltenen Trichinen zu ermöglichen. Die ganz normal aussehenden Trichinen waren gut verkapselt, Verkalkungen konnten nicht festgestellt werden. Nachdem die einzelnen Portionen genau ausgezählt waren, wurden die Scheiben gründlich gewässert, um Salzvergiftungen bei den Versuchstieren vorzubeugen. Dann wurden die Scheiben zu Kügelchen gedreht und diese den Ratten nach 24 stündigem Hungern vorgelegt. Die Portionen wurden zum größten Teil sofort aufgenommen. Die Verteilung auf die Versuchstiere zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Stark gesalzenes trichinöses Schweinefleisch, Fütterungen am 5.—19. Dezember 1912.

Nummer	Trichinenzahl	Bemerkungen
BR 1	300	Je 50 Trichinen am 5., 7., 9., 11., 14. und 16. Dezember
WR 1	200	Je 100 Trichinen am 10. und 13. Dezember
BR 2	450	Je 150 Trichinen am 12., 14. und 16. Dezember
WR 2	200	Am 19. Dezember
WR 3	300	Am 19. Dezember

Am 22. Dezember starb Ratte BR 1. Eine große Zahl von Fleischproben enthielt keine Trichinen; am Darm waren besondere Veränderungen nicht festzustellen.

Die übrigen Ratten wurden am 30. Januar 1912 erneut zu Fütterungsversuchen benutzt und nach ihrem Tode auf Muskeltrichinen genau untersucht. Bei keiner von ihnen wurden Muskeltrichinen gefunden, die von der Fütterung im Dezember hätten herrühren können. Nach diesem Ergebnis muß angenommen werden, daß das starke Salzen des Fleisches die Trichinen abgetötet hatte. Diese Wirkung des Salzes auf die Trichinen war bereits Leuckart bekannt. Er glaubt, daß die Trichinengefahr vollständig beseitigt werden könne, wenn man Fleisch längere Zeit hindurch reichlich mit Salz bestreut ohne Wasserzusatz liegen lasse. Die Trichinen seien dann „mehr oder minder stark geschrumpft und gerunzelt, tot offenbar infolge der Wasserentziehung". Davon konnte ich bei dem von mir verwendeten Fleische nichts bemerken. Die Trichinen sahen im Gegenteil derart normal aus, daß ich kein Bedenken trug, das Fleisch zu Fütterungen zu verwenden.

Versuch 2.

Am 30. Januar 1912 wurden BR 2 und WR 1—3 mit frischem (ungesalzenem) trichinigem Schweinefleisch vom Hygienischen Institut erneut gefüttert. Diesmal wurde das Fleisch fein gehackt und gut durcheinander gemischt. Dann wurde zweimal von je 1 g Fleisch unter Zusatz von etwas Wasser die Trichinenzahl ermittelt. Im ersten Gramm waren 131 Trichinen enthalten, im zweiten 126. Mithin kamen durchschnittlich auf 1 g Schweinefleisch 128 Trichinen.

Die Ratten erhielten auf je 100 g Körpergewicht 3 g Trichinenfleisch. Jede Portion Fleisch wurde auf einem kleinen Stück Papier gewogen, zu einem Ballen geformt und mit dem Papier der Ratte verabreicht. Vorher waren die Tiere in sanbere Gläser ohne Streu gesetzt worden. So konnte genau kontrolliert werden, ob die ganze Portion aufgenommen worden war. Bei allen folgenden Versuchen wurde in der gleichen Weise verfahren. Die Ratten verzehrten sämtlich die ganze vorgelegte Portion. Näheres ergibt Tabelle II.

Tabelle II.
Trichinöses Schweinefleisch,
Fütterung am 30. Januar 1912.

Nummer	Gewicht g	Trichinenfleisch g	Trichinenzahl	Bemerkungen
WR 2	74	2,2	281	Stirbt am 5. März, Gewicht 45 g. Muskeltrichinose, Kapseln noch wenig ausgebildet
WR 1	82	2,4	307	Stirbt am 4. April, Gewicht 56 g, Muskeltrichinose, Kapseln gut ausgebildet
WR 3	87	2,6	332	Stirbt am 8. Februar, das Tier saß bereits am Vormittage mit kurz gehendem Atem und hatte schlecht gefressen; Darmtrichinose. Zahlreiche Darmtrichinen, Darm auf weite Strecken entzündet
BR 2	90	2,7	345	Stirbt am 6. Februar, Darmtrichinose. Zahlreiche Darmtrichinen, Darm entzündet

Die beiden an Darmtrichinose eingegangenen Ratten sind nach 7 und 9 Tagen gestorben, die beiden an Muskeltrichinose verendeten erst nach 34 und 65 Tagen. Die größere Trichinenzahl hat den Tod an Darmtrichinose in kürzerer Zeit bewirkt als die kleinere.

Die Kennzeichen der Darmtrichinose hat Stäubli vollkommen richtig angegeben. Rissling und Raebiger haben seine Angaben bestätigt. Der Darm erweist sich häufig auf weite Strecken entzündet und führt dünnflüssigen, stark schleimigen Inhalt, der gewöhnlich gelbrot bis braunrot gefärbt ist. Die Gefäße sind injiziert. Bisweilen beschränken sich die charakteristischen Veränderungen auf die oberen Teile des Darmes. Die Veränderungen waren jedoch in allen Fällen, wo der Tod durch Darmtrichinose erfolgt war, nachzuweisen.

Die an Muskeltrichinose eingegangenen Ratten lassen einen starken Rückgang ihres Körpergewichts erkennen; bei WR 2 von 74 auf 45 g, bei WR 1 von 82 auf 56 g. Ähnliche Abmagerungen hat bereits Leuckart bei trichinisierten Schweinen beobachtet.

Versuch 2 zeigt in Übereinstimmung mit Angaben früherer Untersucher, besonders von Rissling und Raebiger, daß schon verhältnismäßig kleine Mengen trichinösen Schweinefleisches bei Ratten den Tod durch Darmtrichinose bewirken können. Auffällig ist die geringe Anzahl Trichinen (332 und 345), die an diesem

Ergebnis schuld ist. Wir werden später sehen, daß bei Verwendung von trichinigem Rattenfleisch viel höhere Zahlen notwendig sind, um den gleichen Erfolg hervorzurufen. Allerdings können die angegebenen Zahlen nicht bestimmt als Dosis mortalis für Schweinefleisch angesehen werden, dafür kann vielleicht folgender Versuch sprechen.

Versuch 3.

Mit dem gleichen trichinösen Schweinefleisch wie zu Versuch 2 wurden am 24. Februar 1912 4 weiße Ratten (WR 4—7) gefüttert. Bei der Zählung ergaben sich für 1 g Fleisch 182 Trichinen [1]). Jede Ratte erhielt wieder auf 100 g Körpergewicht 3 g Schweinefleisch. Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.
Trichinöses Schweinefleisch,
Fütterung am 24. Februar 1912.

Nummer	Gewicht g	Trichinenfleisch g	Trichinenzahl	Bemerkungen
WR 4	72	2,2	400	Nicht untersucht, nochmalige Verwendung bei Versuch 5
WR 5	82	2,5	425	
WR 6	86	2,6	473	
WR 7	86	2,6	473	Getötet am 23. Mai, zahlreiche eingekapselte Muskeltrichinen

Diese Ratten sind offenbar sämtlich muskeltrichinös geworden. Wenn die für 1 g Fleisch ermittelte Zahl von 182 Trichinen nicht ein Zufallsergebnis darstellt, so muß angenommen werden, daß die Versuchstiere sämtlich eine größere Zahl Trichinen vertragen haben als im Versuch 2. Nimmt man jedoch an, daß 1 g des verwendeten Fleisches wie im Versuch 2 nur etwa 128 Trichinen enthielt, so reiht sich das Versuchsergebnis den auf S. 576 angeführten Zahlen gut ein. Dort erfolgte der Tod infolge Darmtrichinose schon bei Verabreichung von 2,6 g Schweinefleisch, hier ertrugen die Tiere diese Portion noch.

Nach den aus Versuch 2 erhaltenen Zahlen und nach den Angaben von Rissling, daß bereits bohnengroße Stücke trichinösen Schweinefleisches den Tod von Ratten in der Phase der Darmtrichinose bewirken können, möchte ich als ungefähre Dosis mortalis für Schweinefleisch 350 Trichinen annehmen. Immerhin bedarf diese Angabe der Nachprüfung.

Versuch 4.

Bei diesem Versuch fanden wilde Ratten Verwendung. Ihr Verhalten mußte in erster Linie geprüft werden, da nur sie unter ihren Artgenossen in der Praxis als Überträger in Betracht kommen. Die Fütterung erfolgte mit trichinigem Rattenfleisch. Bemerkenswerte Urteile über die Empfindlichkeit der grauen Ratten finden wir bei Rissling und Raebiger. Beide geben übereinstimmend an, daß wilde Ratten weniger widerstandsfähig gegen Trichinenfütterung seien

[1]) Das Fleisch hatte seit der Fütterung am 30. Januar in Papier verpackt im Eisschrank gelegen.

als zahme. Während Raebiger dieser Tatsache eine gewisse Bedentung beizulegen scheint, glaubt Rissling, in der geringeren Empfindlichkeit der zahmen Ratten sei keine besondere Eigentümlichkeit zu erblicken, vielmehr kämen für die grauen Ratten besondere Umstände in Betracht, vor allem die ungewohnten Verhältnisse der Gefangenschaft.

Dieser Faktor mußte daher bei meinen Versuchen nach Möglichkeit ausgeschaltet werden, indem die Ratten zunächst an die Gefangenschaft gewöhnt wurden.

Am 9. November 1911 setzte ich 10 frisch gefangene wilde Ratten in einen 1 cbm großen Käfig, dessen Boden mit Torfstreu bedeckt war. Am 12. November 1911, 1., 2. und 14. Januar 1912 starb je eine Ratte. Mit Ausnahme der letzten, die spontan einging, wiesen alle Ratten schwere Bißverletzungen auf. Hier wie auch bei späteren Versuchen, graue Ratten in einem gemeinsamen Käfig zu halten, erlagen die schwächeren Männchen den Angriffen des kräftigsten.

Am 20. April 1912, nachdem sie sich mehr als 5 Monate an die Gefangenschaft gewöhnt hatten, wurden die übrig gebliebenen 6 Ratten (R 1—R 6) in Versuch genommen. Todesfälle im Sinne Risslings glaube ich bei diesen Versuchstieren ausschalten zu können. Das trichinige Rattenfleisch erhielt ich von der bakteriologischen Station Hamburg; Herrn Prof. Glage sei auch hier nochmals bestens gedankt.

Für die Menge des verabreichten Fleisches dienten als Anhaltspunkte die Angaben von Stäubli, der Tod infolge Darmtrichinose schon bei 1 g auf je 100 g Körpergewicht des Versuchstieres erhielt. Da er die Dosis bis auf 3,5 g auf je 100 g Körpergewicht steigerte, so wurden die 6 Ratten mit 1 • 1,5 • 2 • 2,5 • 3 • 3,5 g Trichinenfleisch auf je 100 g Körpergewicht gefüttert. Für 2 g des verwendeten Rattenfleisches wurde die Zahl der darin enthaltenen Trichinen ermittelt. Das erste Gramm enthielt 1490, das zweite 1469 Trichinen, mithin enthielt 1 g mindestens 1450 Trichinen. Diese Zahl ist den Berechnungen in Tabelle IV zugrunde gelegt.

Tabelle IV.

Trichinöses Rattenfleisch,
Fütterung am 20. April 1912.

Nummer	Gewicht	Trichinenfleisch		Ungefähre Trichinenzahl	Bemerkungen
		auf 100 g	im ganzen		
	g	g	g		
R 1	246	1	2,46	3 500	Alles aufgenommen, stirbt am 29. Juni, Muskeltrichinose, Kapseln ausgebildet
R 2	235	1,5	3,53	5 100	Alles aufgenommen, am 23. April apathisch, stirbt am 21. Mai, Muskeltrichinose, Kapseln noch wenig ausgebildet, Gewicht 154 g
R 5	174	3	5,22	7 500	Alles aufgenommen, stirbt am 19. Mai, Muskeltrichinose, Kapseln noch wenig ausgebildet, Gewicht 124 g
R 4	213	2,5	5,33	7 700	Fast alles aufgenommen, stirbt am 26. April, Darmtrichinose, zahlreiche Darmtrichinen, Darm entzündet
R 3	274	2	5,48	7 900	Fast alles aufgenommen, stirbt Nacht 21./22. April, Darmtrichinose, zahlreiche Darmtrichinen, Darm entzündet
R 6	315	3,5	11,03	16 000	Alles aufgenommen, am 23. April apathisch, stirbt am 28. April, Darmtrichinose, zahlreiche Darmtrichinen, Darm auf weite Strecken entzündet

Das Ergebnis des Versuches zeigt, daß die Dosierung des verfütterten Fleisches im Verhältnis zum Körpergewicht des Versuchstieres keine Rolle spielt, sondern daß ausschlaggebend für den Erfolg nur die Zahl der Trichinen ist. Deshalb überstand R 5 die Darmtrichinose, obwohl das Tier 3 g Rattenfleisch auf 100 g Körpergewicht bekommen hatte, während R 3, die nur 2 g auf 100 g erhielt, an Darmtrichinose einging. R 3 hatte jedoch 7900 Trichinen und R 5 nur 7500 erhalten. Mit Ausnahme von R 6 haben die Tiere um so länger gelebt, je weniger Trichinen sie verzehrt hatten. R 6 war ein besonders kräftiges Männchen, es war am 23. offenbar schwer krank, erholte sich jedoch anscheinend noch einmal, um am 28. der außerordentlich starken Infektion zu erliegen.

Es zeigt sich also, daß bei besonders kräftigen Ratten der Krankheitsprozeß zwar gelegentlich verlängert werden kann, daß aber auch solche Tiere den schädigenden Einwirkungen der Trichinen schließlich erliegen.

Die an Darmtrichinose eingegangenen Ratten sind nach 2, 6 und 8 Tagen gestorben, die an Muskeltrichinose verendeten erst nach 29, 31 und 70 Tagen.

Die Dosis mortalis lag etwa bei 7700 Trichinen. Bemerkenswert ist wiederum der starke Rückgang im Körpergewicht bei den an Muskeltrichinose gestorbenen Ratten: R 2 von 235 auf 154 g, R 5 von 174 auf 124 g.

Versuch 5.

Die hier geschilderten Untersuchungen wurden in meiner Abwesenheit durch den vorübergehend im Gesundheitsamte arbeitenden Tierarzt, Herrn Dr. Blume, nach Anweisung von Herrn Geh. Regierungsrat Dr. Ströse ausgeführt. Als Versuchstiere dienten drei weiße Ratten (WR 4—6), die schon einmal im Versuch gewesen waren (vergl. S. 577, Versuch 3). Verfüttert wurde das Fleisch der am 21. Mai an Muskeltrichinose gestorbenen grauen Ratte R 2 (vergl. Tabelle IV). Das Fleisch wurde in der von mir angegebenen, auf S. 576 näher geschilderten Weise zubereitet und den Ratten vorgelegt; in 0,25 g genau untersuchten Rattenfleisches fanden sich 13 324 Trichinen; nach diesem Ergebnis wurden 3 Portionen zugewogen, die etwa 4000, 8000 und 16 000 Trichinen enthielten. Näheres ergibt Tabelle V.

Tabelle V.
Sehr stark trichinöses Rattenfleisch,
Fütterung am 24. Mai 1912.

Nummer	Gewicht g	Trichinenfleisch im ganzen g	Ungefähre Trichinenzahl	Bemerkungen
WR 4	142	0,3	4 000	Alles gefressen, getötet am 22. November 1912, Muskeltrichinose
WR 5	140	0,6	8 000	Getötet am 13. November 1912, Muskeltrichinose
WR 6	154	1,2	16 000	Stirbt am 28. Mai 1912, Darmtrichinose

Wie in Versuch 4 ging auch hier die mit etwa 16 000 Trichinen gefütterte Ratte WR 6 an Darmtrichinose ein, und zwar bereits nach 4 Tagen. Dagegen blieb die mit etwa 8000 Trichinen gefütterte Ratte WR 5 am Leben, obwohl sie entsprechend Versuch 4 die Dosis mortalis erhalten

hatte. Wenn man aus diesem Ergebnis nicht die bereits auf S. 577 erwähnte geringere Empfindlichkeit der zahmen Ratten folgern will, so bleibt nur übrig, an eine Ungenauigkeit bei der Zählung der Trichinen zu denken, die ja bei der außerordentlich starken Trichinisierung des Fleisches nicht unmöglich wäre, oder anzunehmen, daß das verfütterte Fleisch nicht gleichmäßig gemischt worden war. Bei der Untersuchung von WR 4 und WR 5, die ich selbst vornahm, hatte ich den Eindruck, daß WR 4 bedeutend stärker trichinös war als WR 5; auf diesen Umstand weisen auch die Eintragungen in meinem Versuchsprotokoll — „zahlreiche Muskeltrichinen" bei WR 4 und „Muskeltrichinen" bei WR 5 — hin. Nach diesem Befund möchte ich annehmen, daß Ratte WR 5 nicht 8000 Trichinen erhalten hatte, sodaß damit ihr Überstehen der Darmtrichinose erklärt wäre.

War bei Versuch 5 die starke Trichinisierung des verfütterten Rattenfleisches vermutlich die Ursache des zweifelhaften Ausgangs des Experiments, so kann es anderseits auch der geringe Trichinengehalt des verwendeten Fleisches sein. In diesem Falle müssen, um die Dosis mortalis zu erreichen, große Fleischmengen den Ratten vorgelegt werden, was bei etwaigen Ungenauigkeiten der Zählung und nicht genügender Mischung des gehackten Fleisches den Ausgang des Versuches zweifelhaft machen kann. Als Beispiel hierfür diene Versuch 6.

Versuch 6.

Drei graue Ratten (R 7—9), die sich seit dem 23. Mai 1912 in Gefangenschaft befanden, wurden am 23. November 1912 mit dem Fleisch der am 22. November getöteten weißen Ratte WR 4 gefüttert. 1 g Fleisch enthielt 403 Trichinen, es war also mit Rücksicht darauf, daß es sich um Rattenfleisch handelte, nur schwach trichinös. Von einer Dosierung des Trichinenfleisches in bestimmten Verhältnissen zum Körpergewicht der Ratten wurde hier und bei den folgenden Versuchen abgesehen, da das offenbar nicht ausschlaggebend ist (vergl. S. 579) R 7 sollte fast die Dosis mortalis (zwischen 7500 und 7700 nach Tabelle IV) erhalten; R 8 erhielt eine geringere Dosis, den Rest des Fleisches bekam R 9, um für spätere Fütterungsversuche trichiniges Rattenfleisch zu liefern. Tabelle VI zeigt die näheren Umstände.

Tabelle VI.
Schwach trichinöses Rattenfleisch,
Fütterung am 23. November 1912.

Nummer	Gewicht g	Trichinenfleisch im ganzen g	Ungefähre Trichinenzahl	Bemerkungen
R 7	180	18,75	7 500	Nicht ganz die Hälfte gefressen, getötet am 9. Januar 1913, Muskeltrichinose
R 8	184	15,0	6 000	Über Nacht alles gefressen, stirbt am 28. November 1912, Darmtrichinose, zahlreiche Darmtrichinen, Darm stark entzündet
R 9	230	4,4	1 760	Alles gefressen, getötet am 12. April 1913, Muskeltrichinose

Da R 7 nur die Hälfte der ihr vorgelegten Portion verzehrt hatte, konnte der Erfolg der Fütterung nicht zweifelhaft sein. R 8 dagegen hätte entsprechend den Zahlen in Tabelle IV die Darmtrichinose überstehen müssen. Das Tier hatte die große ihr zugedachte Portion über Nacht vollkommen aufgefressen und starb 5 Tage nach der Fütterung an typischer Darmtrichinose. Der Darm war stark gerötet, führte schleimig-dünnflüssigen rötlichen bis braunroten Inhalt, mit zahlreichen Darmtrichinen, die Gefäße waren injiziert. Hier dürfte wohl die Zahl von 6000 Trichinen nicht ausreichen.

Tabelle VII.

Stark trichinöses Rattenfleisch,
Fütterung am 10. Januar 1913.

Nummer	Gewicht g	Trichinenfleisch im ganzen g	Ungefähre Trichinenzahl	Bemerkungen
R 10	222	5	6000	Alles über Nacht aufgenommen, stirbt am 3. Februar; Darm stark gerötet, zahlreiche Darmtrichinen, Zwerchfell sehr dicht mit Muskeltrichinen besetzt, die bereits spiralig aufgerollt sind
R 11	241	5,78	7000	Alles über Nacht aufgenommen, stirbt Nacht 2./3. Februar, Darm stark gerötet, zahlreiche Darmtrichinen, Zwerchfell dicht mit Muskeltrichinen besetzt, die bereits spiralig aufgerollt sind
R 12	248	6,2	7500	Alles über Nacht aufgenommen, stirbt Nacht 3./4. Februar, Darm entzündet, dünnflüssiger, braunroter Inhalt, Rötung nicht so stark wie bei R 10 und R 11, Zwerchfell dicht mit jungen, meist spiralig aufgerollten Muskeltrichinen besetzt
R 13	251	6,61	8000	Alles über Nacht aufgenommen, stirbt Nacht 4./5. Februar, vordere Hälfte des Dünndarms stark gerötet, zahlreiche Darmtrichinen, Zwerchfell außerordentlich dicht mit jungen, bereits spiralig aufgerollten Muskeltrichinen besetzt
R 14	262	6,61	8000	Alles über Nacht aufgenommen, am 24. Januar Lähmungserscheinungen, stirbt am 25. Januar morgens, Darm schwach gerötet, zahlreiche Darmtrichinen, Zwerchfell sehr dicht mit noch gestreckten jungen Muskeltrichinen besetzt
R 15	295	7,2	8500	Alles über Nacht aufgenommen, stirbt Nacht 19./20. Januar, Darm stark gerötet, Gefäße injiziert, dünnflüssiger, rötlicher bis braunroter Inhalt, zahlreiche Darmtrichinen
R 16	338	6,4	7750	Fast alles innerhalb 1 Stunde, Rest über Nacht aufgenommen, stirbt am 2. Februar morgens, Darm sehr stark gerötet, zahlreiche Darmtrichinen, Zwerchfell außerordentlich dicht mit jungen, bereits spiralig aufgerollten Muskeltrichinen besetzt

Versuch 7.

Die Ergebnisse dieser Fütterungsreihe sind besonders interessant, weil die verwendeten Portionen absichtlich zum größten Teil als Dosis mortalis gedacht waren. Verfüttert wurde das Fleisch der grauen Ratte R 7 (vergl. Tabelle VI), das 1207 Trichinen in 1 g enthielt. Die Ratten, graue Ratten R 10—16, die seit dem 23. Mai 1912 in dem erwähnten großen Käfig an die Gefangenschaft gewöhnt worden waren[1]), wurden am 10. Januar in Gläser gesetzt und in der auf S. 576 angegebenen Weise gefüttert. Je schwerer die Versuchstiere waren, desto mehr Trichinen erhielten sie; nur die stärkste Ratte erhielt die im Versuch 4 ermittelte vermutliche Dosis mortalis von 7550 Trichinen. Wegen Einzelheiten sei auf Tabelle VII (S. 581) verwiesen.

Sämtliche zu Versuch 7 verwendeten Ratten sind den Einwirkungen der Trichinen innerhalb 26 Tagen erlegen. An Darmtrichinose starb nur die mit der Höchstzahl, 8500 Trichinen, gefütterte Ratte R 15 (nach 10 Tagen), alle übrigen Ratten gingen in verschiedenen Phasen der Muskeltrichinose ein. Die starke Rötung des Darmes und der ständige Befund von Darmtrichinen auch bei diesen Ratten berechtigt zu der Annahme, daß die Darmentzündung als Todesursache nebenher in Betracht kommt. In erster Linie dürfte jedoch die schädigende Wirkung der in die Muskulatur eingedrungenen Trichinen für den Tod der Tiere verantwortlich zu machen sein. So hat R 14 am Tage vor ihrem Tode deutliche Lähmungserscheinungen an den Hinterbeinen gezeigt, die auf eine toxische Wirkung der Trichinen hindeuten (ich komme auf die Abscheidung von Toxinen durch die Trichinen noch zurück, S. 589).

Die Dosis mortalis liegt zwischen 8000 und 8500 Trichinen, also etwas höher als in Tabelle IV. Die Versuchsreihe zeigt jedoch deutlich, daß eine ganz bestimmte Trichinenzahl den Tod an Darmtrichinose verursacht. Sämtliche Ratten, die diese Dosis nicht erhalten hatten, überstanden zunächst die Darmtrichinose. Daß sie dann mit einer Ausnahme (R 14) in einem Zeitraum von 3 Tagen (23—26 Tage nach der Fütterung) verendeten, beweist, daß einzig und allein die Trichinen als Todesursache anzusehen sind. R 14 starb bereits nach 15 Tagen. Sie hatte wahrscheinlich etwas mehr als 8000 Trichinen oder fast die Dosis mortalis erhalten.

Durch eine größere Anzahl von Versuchsreihen wird sich vielleicht die Dosis mortalis noch genauer feststellen lassen. Immerhin wird die ungleichmäßige Verteilung der Trichinen in den einzelnen Muskelgruppen eine ständige Fehlerquelle darstellen, die sich auch durch sorgfältiges Mischen beim Hacken des Fleisches nicht ganz ausschalten läßt. Nach den Ergebnissen aus Versuch 4 und 7 möchte ich für Rattenfleisch die Dosis mortalis zu etwa 8000 Trichinen annehmen.

Versuch 7 zeigt die Empfindlichkeit der Ratten gegenüber der Trichineninfektion besonders deutlich. Die Ergebnisse der Versuche 4 bis 7 beweisen, daß beim Übergang der Trichinen von Ratte zu Ratte mit einer sehr großen Zahl von Todesfällen infolge Darmtrichinose zu rechnen ist. Mindestens die gleiche, wahrscheinlich aber eine noch größere Zahl Ratten dürfte jedoch der Muskeltrichinose erliegen.

In dieser Hinsicht sind zwei Gruppen durch meine Versuche deutlich erkennbar geworden:

1. Der Tod kann kurz nach Überstehen der Darmtrichinose eintreten (besonders Versuch 7), dann sind die Trichinen noch nicht verkapselt;

[1]) Von den am 23. Mai gelieferten 12 Ratten waren übrigens nur 2 am 22. und 31. Juli gestorben.

2. der Tod tritt erst später ein, wenn die Kapselbildung bereits vollzogen ist (besonders Versuch 4).

Für die Praxis scheinen die beiden Gruppen zunächst verschiedene Bedeutung zu haben. Stäubli hat der Darmtrichinose deshalb eine besondere Bedeutung zugesprochen, weil bei Eintritt des Todes durch Darmtrichinose die Generationsfolge der Trichinen unterbrochen wird: Darmtrichinen vermögen nicht zu infizieren. Es fragt sich, ob die Todesfälle infolge Muskeltrichinose kurz nach Überstehen der Darmtrichinose (Gruppe 1) eine Bedeutung für die Generationsfolge der Trichinen besitzen.

Allgemein sind die an Muskeltrichinose eingegangenen Ratten sehr stark trichinös, die von Gruppe 1 naturgemäß in höherem Maße als die von Gruppe 2. Werden Ratten der letzten Gruppe nach ihrem Tode von Artgenossen gefressen, so können wir sicher mit einer großen Anzahl von Todesfällen infolge Darmtrichinose rechnen. Gruppe 2 besitzt deshalb für die Generationsfolge der Trichinen beim Übergang von Ratte zu Ratte eine wesentliche Bedeutung. Nicht so klar liegen die Verhältnisse zunächst für Gruppe 1. Werden auch die noch nicht verkapselten Trichinen Darmtrichinose erzeugen können? Und — was bei Bejahung dieser Frage zugleich entschieden wird — genügt die angenommene toxische Wirkung der Trichinen, auch wenn sie sich noch nicht zu geschlechtsreifen Tieren im Darm der Ratte zu entwickeln vermögen, ihn also ohne längeren Aufenthalt passieren, um den Tod der Ratten herbeizuführen?

Der Lösung dieser Frage galten die in Versuch 8, 10, 11 und 13 geschilderten Fütterungen an 2 weißen Ratten und an 5 weißen Mäusen.

Versuch 8.

Zwei weiße Ratten, WR 8 und 9, wurden am 3. Februar 1913 mit Fleisch der Ratten R 10 und R 11 gefüttert, das sehr zahlreiche, 24 Tage alte, bereits spiralig aufgerollte, aber noch nicht verkapselte Trichinen enthielt. Besonders die beiden Zwerchfelle der Ratten R 10 und R 11 waren außerordentlich dicht mit Trichinen besetzt. Die Ratten erhielten je eine Hälfte des Zwerchfells und je einen Hinterschenkel von R 10 und R 11. Beide Tiere haben die vorgelegten Zwerchfellstücke vollständig verzehrt und außerdem die Hinterschenkel benagt. Tabelle VIII gibt die näheren Umstände des Versuchs.

Tabelle VIII.
Rattenfleisch mit sehr zahlreichen nicht verkapselten Trichinen, Fütterung am 3. Februar 1913.

Nummer	Fleisch	Bemerkungen
WR 8	Je eine Hälfte des Zwerchfells und je ein Hinterschenkel von R 10 und R 11; großer Teil gefressen, Zwerchfellstücke vollständig	Stirbt Nacht 5./6. Februar, Darmtrichinose, Darm mit dünnflüssigem, gelbem Inhalt erfüllt, darin sehr zahlreiche — aber verdaute Trichinen
WR 9		Stirbt am 5. Februar, Darmtrichinose, Darm mit dünnflüssigem, gelbem Inhalt erfüllt, darin außerordentlich zahlreiche — aber verdaute Trichinen, von denen meist nur die leere Cuticula, bisweilen mit etwas gerinseligem Inhalt erfüllt, vorhanden ist

Beide Ratten sind nach 2 und $2^1/_2$ Tagen an Darmtrichinose eingegangen; die Wirkung der nicht verkapselten Trichinen erwies sich demnach als ebenso kräftig wie die von verkapselten. Zur Herbeiführung des Todes durch Darmtrichinose bedarf es also nicht des längeren Aufenthaltes der Trichinen im Darmkanal, wie sie die Erledigung des Fortpflanzungsgeschäftes mit sich bringt. Selbst wenn sie verdaut werden und den Darm in kurzer Zeit passieren, schädigen sie ihr Wirtstier doch derart, daß es der Intoxikation erliegt.

Die Versuche an weißen Mäusen hatten das gleiche Ergebnis; darüber soll im folgenden berichtet werden (Versuch 10, 11 und 13).

Versuch 9.

Zuvor mußte jedoch erwiesen werden, daß Mäuse gegenüber der Darmtrichinose ebenfalls eine sehr große Empfindlichkeit zeigen. Bisher hatte man dafür keine Beweise. Ja Stäubli sagt sogar in seiner zusammenfassenden Arbeit (1913): „Die Mäuse scheinen gegenüber der Trichineninfektion relativ widerstandsfähig zu sein. Ostertag und Böhm hatten bei ihren Versuchen keine Todesfälle zu verzeichnen." Auch Ströse schreibt, daß Mäuse die Fütterung mit stark trichinösem Fleisch sehr gut vertragen.

Bei der ersten Fütterung von trichinösem Rattenfleisch an Mäuse wurde zugleich der Versuch gemacht, die ungefähre Dosis mortalis festzustellen. Die beiden weißen Mäuse M 1 und M 2 erhielten am 11. Januar 1913 Fleisch der grauen Ratte R 7, das zu Versuch 7 Verwendung gefunden hatte und in 1 g 1207 Trichinen erhielt. M 1 bekam $^1/_2$ g, also etwa 600 Trichinen, M 2 wurde mit dem zur Zählung der Trichinen verwendeten Gramm Fleisch, also mit 1207 Trichinen, gefüttert. Beide Tiere verzehrten fast die ganze Portion. Das Ergebnis des Versuchs ist aus Tabelle IX zu ersehen.

Tabelle IX.
Stark trichinöses Rattenfleisch,
Fütterung am 11. Januar 1913.

Nummer	Trichinenfleisch im ganzen g	Ungefähre Trichinenzahl	Bemerkungen
M 1	0,5	600	Innerhalb $2^1/_2$ Stunden fast alles gefressen, stirbt am 11. Februar, Zwerchfell sehr dicht mit Muskeltrichinen besetzt, bei ältesten beginnt Kapselbildung.
M 2	1,0	1200	Innerhalb $2^1/_2$ Stunden bis auf geringen Rest gefressen, stirbt am 18. Januar, Darm gerötet mit dünnflüssigem, braunrotem Inhalt, zahlreiche Darmtrichinen.

Bemerkenswert war zunächst, daß die beiden Mäuse, obwohl sie vorher nicht gehungert hatten, das Fleisch sehr willig annahmen. Nach ihrem ganzen Verhalten bei meinen Versuchen scheinen mir überhaupt Mäuse viel lüsterner und gefräßiger zu sein als Ratten. Das beweist schon M 2, die das ihr vorgelegte Gramm Rattenfleisch innerhalb $2^1/_2$ Stunden bis auf einen geringen Rest verzehrte.

Die mit 1207 Trichinen gefütterte Maus M 2 starb nach 7 Tagen an Darmtrichinose; die Sektion nahm in meiner Abwesenheit Herr Dr. Kallert vor. Die zweite Maus M 1, die nur 600 Trichinen erhalten hatte, starb nach 31 Tagen infolge Muskeltrichinose. Der verhältnismäßig späte Eintritt des Todes dieser Maus und die

Tatsache, daß M 2 erst nach 7 Tagen starb, weist unter Berücksichtigung der Erfahrungen aus Versuch 4 und 7 darauf hin, daß die Dosis mortalis für Mäuse bei Verwendung von trichinigem Rattenfleisch etwa zu 1200 Trichinen anzunehmen ist.

Schon dieser Versuch zeigt, daß die nach unsern bisherigen Kenntnissen ausgesprochene Vermutung Stäublis, die Mäuse seien verhältnismäßig unempfindlich gegenüber der Darmtrichinose, nicht zu Recht besteht. Die folgenden Versuche werden für diese Behauptung weitere Beweise liefern.

Versuch 10.

Zwei weiße Mäuse, M 3 und M 4, wurden am 3. Februar 1913 mit Fleisch derselben Ratten R 10 und R 11 gefüttert, die bereits für Versuch 8 Verwendung gefunden hatten. Jede Maus erhielt außer einem Stück Beinmuskulatur ein Stück Kaumuskel der Ratten; beide Tiere verzehrten einen großen Teil ihrer Portion. Das Ergebnis des Versuches zeigt Tabelle X.

Tabelle X.

Rattenfleisch mit sehr zahlreichen, nicht verkapselten Trichinen, Fütterung am 3. Februar 1913.

Nummer	Fleisch	Bemerkungen
M 3	Je ein Stück Beinmuskulatur und ein Stück Kaumuskel von R 10 und R 11	Stirbt Nacht 5./6. Februar, Darmtrichinose, Darm gerötet, dünnflüssiger, gelbroter Inhalt, verdaute, spiralig aufgerollte Trichinen.
M 4		Stirbt am 5. Februar, langer Todeskampf, Darmtrichinose, Darm gerötet, dünnflüssiger, braunroter Inhalt, spiralige Trichinen, meist noch mit Körperinhalt, eine Trichine bewegte sich.

Beide Mäuse sind nach 2 und 2½ Tagen an typischer Darmtrichinose gestorben.

Versuch 11.

Ein ähnlicher Versuch wie der vorige wurde mit zwei weiteren weißen Mäusen, M 5 und M 6, vorgenommen. Verfüttert wurde am 5. Februar 1913 nachmittags Fleisch von R 13, das sehr zahlreiche spiralig aufgerollte, aber nicht verkapselte Trichinen enthielt, die ein Alter von 26 Tagen hatten. Jede Maus erhielt je eine Hälfte des Zwerchfells und einen Kaumuskel der Ratte. Das Zwerchfell war außerordentlich dicht mit Trichinen besetzt. Den Ausgang des Versuches veranschaulicht Tabelle XI.

Tabelle XI.

Rattenfleisch mit sehr zahlreichen, nicht verkapselten Trichinen, Fütterung am 5. Februar 1913.

Nummer	Art der Fütterung	Bemerkungen
M 5	Je eine Hälfte des Zwerchfells und ein Kaumuskel von R 13	Nicht alles gefressen, stirbt am 6. Februar morgens, langer Todeskampf, Darmtrichinose, Darm braunrot, dünnflüssiger Inhalt, außerordentlich zahlreiche, intakte Trichinen, spiralig aufgerollt, bei Erwärmung zeigen sie fast sämtlich lebhafte Bewegung.
M 6		Alles gefressen, stirbt am 8. Februar, Darmtrichinose, Darm dünnflüssiger, gelber Inhalt, Gefäße injiziert, zahlreiche spiralige Trichinen.

Beide Mäuse starben nach 1 und 3 Tagen an typischer Darmtrichinose. Die zur Fütterung verwendeten Portionen waren recht klein; allerdings handelte es sich um Muskel, die bekanntlich Lieblingssitze der Trichinen sind. Obwohl die beiden Mäuse — wie auch die in Versuch 9 und 10 verwendeten — vorher nicht gehungert hatten, nahmen sie das Fleisch doch in sehr kurzer Zeit auf. Es kann ohne weiteres angenommen werden, daß frei lebende Mäuse gleiche und sogar größere Portionen verzehren können. Der Versuch zeigt daher besonders deutlich, daß die Darmtrichinose als Todesursache auch bei weißen Mäusen eine große Rolle spielen dürfte.

Besonders charakteristisch äußerten sich die Krankheitserscheinungen bei M 4 und M 5. Beide Tiere bestanden unter schweren Lähmungserscheinungen einen langen Todeskampf, sie lagen auf der Seite und die Hinterbeine waren lang ausgestreckt. Das sind Erscheinungen, wie sie Mäuse bei Vergiftungen, sei es durch bakterielle oder andere Toxine, in gleicher Weise zeigen; ein erneuter Hinweis auf die toxische Wirkung der Trichinen.

Versuch 12.

Zu den Versuchen 9—11 machte sich ein Kontrollversuch nötig. Es könnte eingewendet werden, daß die Mäuse nicht der Wirkung der Trichinen, sondern dem ungewohnten Fleischgenuß erlegen seien, da die Tiere bis dahin nur mit Brot gefüttert worden waren. Der Versuch wurde zugleich und analog mit Versuch 11 angestellt, nur fand nicht-trichinöses Rattenfleisch, und zwar der weißen Ratte WR 9 (vgl. Tabelle VIII), Verwendung. Die beiden weißen Mäuse, M 7 und M 8, bekamen also je eine Hälfte des Zwerchfells und einen Kaumuskel der Ratte; beide fraßen die ganze vorgelegte Portion. Das Ergebnis des Versuchs zeigt Tabelle XII.

Tabelle XII.
Nicht-trichinöses Rattenfleisch,
Fütterung am 5. Februar 1913.

Nummer	Art der Fütterung	Bemerkungen
M 7	Je eine Hälfte des Zwerchfells und ein Kaumuskel von WR 9	Alles gefressen, bleibt am Leben (getötet am 12. Februar und zu Fütterung von M 8, Kontrolle zu M 11, verwendet).
M 8		Alles gefressen, bleibt am Leben (nochmals gefüttert am 12. Februar: Kaumuskel und Hinterschenkel von M 7, Kontrolle zu M 11, bleibt auch nach dieser zweiten Fütterung am Leben).

Beide Mäuse blieben am Leben, obgleich die verabreichten Fleischportionen den von M 5 und M 6 entsprachen.

M 7 wurde am 12. Februar getötet und ein Hinterschenkel und die Kaumuskel an M 8 verfüttert als Kontrolle zu Versuch 13 (s. d.). M 8 blieb auch nach dieser zweiten Fütterung am Leben. Damit ist erwiesen, daß der Tod der weißen Mäuse in Versuch 9—11 dem Einfluß der Trichinen zuzuschreiben ist.

Versuch 13.

Nachdem durch Versuch 9—11 die Empfindlichkeit der Mäuse gegenüber der Darmtrichinose gezeigt war, mußte noch die Frage entschieden werden, ob bei den Mäusen ähnliche Verhältnisse vorlägen wie bei den Ratten, daß also auch beim Übergang der Trichinen von Maus zu Maus die Generationsfolge der Trichinen infolge Darmtrichinose häufig unterbrochen wird.

Wegen Materialmangels wurde nur ein Versuch mit einer weißen Maus (M 11) zugleich mit dem in Versuch 12 geschilderten Kontrollversuch angestellt. M 11 wurde am 11. Februar 1913 mit den Kaumuskeln und einem Hinterschenkel von M 1 gefüttert, worin 31 Tage alte Trichinen verschiedenen Entwicklungszustands enthalten waren; bei den am weitesten fortgeschrittenen begann die Kapselbildung. Das Ergebnis zeigt Tabelle XIII.

Tabelle XIII.

Nummer	Datum und Art der Fütterung	Bemerkungen
M 11	11. Februar 1913, Kaumuskel und Hinterschenkel von M 1	Alles gefressen, am 12. Februar Lähmungserscheinungen, stirbt am 13. Februar, Darmtrichinose, Darm gelbroter Inhalt mit zahlreichen, spiraligen Trichinen.
M 8	12. Februar 1913, Kontrolle, Kaumuskel und Hinterschenkel von M 7	Alles gefressen, bleibt am Leben.

Die mit stark trichinöseem Mäusefleisch gefütterte Maus M 11 erlag der Darmtrichinose nach 2 Tagen. Das Ergebnis des Versuches zeigt, daß die Generationsfolge der Trichinen beim Übergang von Maus zu Maus mindestens ebenso häufig wie bei Ratten durch Todesfälle infolge Darmtrichinose eine Unterbrechung erleidet. Ja, es will mir scheinen, als ob dieser Fall bei Mäusen noch häufiger eintritt. Denn die Mäuse nahmen das Fleisch viel williger an als die Ratten, so daß sie um so mehr der Gefahr ausgesetzt sind, an Darmtrichinose einzugehen oder zum mindesten den Grad von Muskeltrichinose zu erreichen, der zur Herbeiführung der Darmtrichinose ausreicht, wenn sie nach ihrem Tode von Artgenossen verzehrt werden. Daß Mäuse einander gelegentlich auffressen, ist bei Laboratoriumsversuchen oft genug beobachtet worden.

Versuch 14.

Dieser Versuch stellt die Wiederholung eines Experiments dar, das Stäubli (1911) ausgeführt hat. Eine graue Ratte, R 20, die am 12. April 1913 mit einem 7,420 g schweren Hinterschenkel der Ratte R 9 (vgl. Tabelle VI) gefüttert worden war und das Fleisch vollkommen abgenagt und verzehrt hatte, wurde am 20. November 1913 abgezogen[1]), vier grauen Ratten (R 21 bis R 24) vorgeworfen. Die vier Ratten befanden sich bereits mehrere Monate in dem auf S. 578 erwähnten Käfig, in dem auch der Versuch vorgenommen wurde, in Gefangenschaft. Das Fleisch von R 20 war sehr stark trichinös, in einem hirsekorngroßen Stück Muskulatur aus einem Hinterschenkel fanden sich mehr als 100 Trichinen.

Die vier Ratten verzehrten am ersten Tage die gesamten Eingeweide und einen Teil der Bauchmuskulatur. Am 23. November morgens entfernte ich den Kadaver von R 20 und konnte feststellen, daß das Fleisch an der Schädeldecke abgenagt und außerdem ein größeres Stück Muskulatur an der linken Seite und am Rücken aus dem Thorax herausgefressen war. Nach meiner Erinnerung fehlte auch das Zwerchfell vollständig, jedoch habe ich zu meinem Bedauern versäumt, hierauf besonderes Augenmerk zu richten[2]). Das Ergebnis des Versuchs ist aus Tabelle XIV zu ersehen.

[1]) Das Abziehen der Haut ist durch ein Versehen wider meinen Willen erfolgt.

[2]) Ein Kontrollversuch, den ich mit gesunden Ratten anstellte, bestärkt mich in der Überzeugung, daß mich mein Gedächtnis nicht trügt. Am 12. Februar 1914 verfütterte ich in getrennten Käfigen eine erwachsene, abgezogene, graue Ratte an drei ebenfalls erwachsene, graue

Tabelle XIV.

Graue Ratte R 20, sehr stark trichinös, wird abgezogen, 4 grauen Ratten am 20. November 1913 in toto vorgeworfen.

Nummer	Fleisch	Bemerkungen
R 21	Graue Ratte R 20	Stirbt am 22. November, Darmtrichinose, Darm stark gerötet, dünnflüssiger Inhalt, sehr zahlreiche Darmtrichinen.
R 22		Stirbt am 22. November, Darmtrichinose, Sektionsbefund wie bei R 21.
R 23		Stirbt am 23. November, Darmtrichinose, Sektionsbefund wie bei R 21.
R 24		Am 23. November vormittags schwere Lähmungserscheinungen, liegt auf der Seite, beim Hochheben schwache Bewegungen mit den Beinen, versucht nach Niederlegen fortzukriechen, fällt wieder auf die Seite, stirbt am 24. November, Darmtrichinose, Sektionsbefund wie bei R 21.

Alle vier Ratten sind an typischer Darmtrichinose gestorben, zwei bereits nach 2 Tagen, eine nach 3 und die letzte nach 4 Tagen. Das Fleisch der Ratte R 20 hätte genügt, um mindestens noch 10 Ratten zu töten.

Die Zahl der Trichinengenerationen ist bei meinem Versuch um eine größer als in dem oben erwähnten Versuch von Stäubli. Dieser hatte die Generationsfolge der Trichinen bereits im zweiten Versuchstier unterbrochen, indem er durch vorsichtiges Füttern mit kleinen Portionen Rattenfleisches in Zwischenräumen die verfütterte Ratte so stark trichinig gemacht hatte, daß die gefütterten Ratten in 2 bis 4 Tagen an Darmtrichinose eingingen. In meinem Versuche wurde die Generationsfolge der Trichinen erst im dritten Versuchstier unterbrochen. Die erste Ratte, R 9, war durch Verabreichung von 1760 Trichinen mittelstark trichinös geworden. Die zweite Ratte, die nur einen Hinterschenkel von R 9 gefressen hatte, wurde dadurch so stark trichinös, daß sie den Tod von 4 Ratten, die von ihrem Fleische einen ver-

---

Ratten, und eine abgezogene, halbwüchsige, graue Ratte an drei halbwüchsige, graue Ratten. In beiden Fällen begannen die Tiere bereits in der ersten Nacht von ihren vorgeworfenen Artgenossen zu fressen, obwohl sie vorher nicht gehungert hatten. Der Versuch hatte folgendes Ergebnis:

a) große Ratte:
am 13. Februar fehlen: großer Teil des Halses und der einen Schulter, am 14. sind Hals, eine Brustseite, die Brustorgane und das Zwerchfell vollständig aufgefressen, der Kopf ist angefressen und der Bauch weist einige Löcher auf;

b) halbwüchsige Ratte:
am 13. Februar sind die Eingeweide herausgezerrt, das Zwerchfell ist zum Teil weggefressen, die eine Brustwand und die beiden Lungen fehlen ganz; am 14. Februar ist die Ratte bis aufs Skelett aufgefressen.

Nach der Besichtigung am 14. Februar wurde der Versuch abgebrochen. In beiden Fällen hatten die Ratten bereits am zweiten Tage das Zwerchfell vollständig aufgefressen; es erscheint mir danach wahrscheinlich, daß das Zwerchfell auch im Versuch 14 von den Ratten verzehrt worden war, zumal sie ja bereits am ersten Tage die gesamten Baucheingeweide gefressen hatten.

hältnismäßig kleinen Teil gefressen hatten, in 2—4 Tagen infolge Darmtrichinose bewirken konnte. Die schrittweise Steigerung des Trichinengehaltes in den beiden Ratten R 9 und R 20 dürfte Verhältnisse, wie sie in der Praxis vorkommen, besonders deutlich widerspiegeln.

Das Ergebnis der beiden besprochenen Versuche zeigt, daß die Ratte für die Arterhaltung der Trichinen nicht geeignet ist.

Zur Frage der Toxinabscheidungen durch Trichinen.

Im Anschluß an die soeben beendeten Ausführungen soll noch über einige Versuche berichtet werden, die den Nachweis der durch die Trichinen ausgeschiedenen Toxine bezwecken. Ich bin mir über den etwas fragmentarischen Gehalt meiner Versuche nicht im Zweifel, möchte sie jedoch trotzdem veröffentlichen, weil sie zur weiteren Klärung der Frage beitragen dürften.

In seiner zusammenfassenden Arbeit über die Trichinose kommt Stäubli (1913) nach Besprechung der Versuche von Romanovitch (1912) zu dem Schluß, daß „die Toxinfrage bei der Trichinose . . . . noch nicht vollkommen gelöst" sei. Romanovitch hatte das Serum stark trichiniger Meerschweinchen bei Meerschweinchen und Ratten subkutan injiziert und aus Darmblutungen, Gefäßhyperämie des Peritoneums, subperitonealen Petechien und Blutpunkten in den Lungen auf Toxine im Serum geschlossen.

Bei meinen Versuchen ging ich einen anderen Weg. Zunächst versuchte ich festzustellen, ob im Darminhalt von Ratten, die an Darmtrichinose eingegangen waren, freie Toxine nachzuweisen wären. Dann wurde weißen Mäusen physiologische Kochsalzlösung subkutan injiziert, in der aus der Muskulatur befreite, noch unverkapselte Muskeltrichinen längere Zeit gehalten worden waren.

Der erste Versuch wurde in der Weise angestellt, daß der in etwas destilliertem Wasser aufgeschwemmte und dann filtrierte Darminhalt der weißen Ratte WR 9 (vgl. Tabelle VIII) zwei weißen Mäusen, M 9 nnd M 10, auf Brot verabreicht wurde. M 9 fraß die ganze Portion, M 10 ließ ein kleines Stück liegen. Beide Mäuse blieben gesund. Dieses Ergebnis hatte ich erwartet; es bestätigt nur die Angaben früherer Autoren: Ostertag (1893), Stäubli (1909), Ströse (1909), Rißling (1910), Raebiger (1911), die bei Verfütterung von Darmtrichinen neben mehr oder weniger Darminhalt von Ratten keine Schädigung der gefütterten Ratten bemerkten. Nur Raebiger starben von 19 mit Darmtrichinen (und Darminhalt) gefütterten Ratten 3 innerhalb 5—11 Tagen; diese Todesfälle könnten vielleicht durch Toxine verursacht sein.

Der zweite Versuch wurde in folgender Weise angestellt: Am 11. Februar 1918 nachmittags wurde das Zwerchfell der weißen Maus M 1 (vgl. Tabelle IX), das sehr dicht mit verschieden alten, mit vereinzelten Ausnahmen unverkapselten Trichinen besetzt war, in einem Uhrschälchen mit physiologischer Kochsalzlösung zerzupft und die Trichinen dadurch zum großen Teil aus der Muskulatur befreit. Die Trichinen sanken zu Boden und wurden durch leichtes Schütteln des Uhrschälchens an dessen tiefster Stelle versammelt. Dann wurde die überstehende Flüssigkeit mit den Muskelfasern vorsichtig mit einer Pipette abgesaugt und durch frische physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Von der Zwerchfellmuskulatur waren jetzt nur noch sehr wenig kleinste Teilchen vorhanden, es lag also eine fast reine Aufschwemmung völlig unversehrter Muskeltrichinen in Kochsalzlösung vor. Diese wurde in sterilen Zentrifugengläsern auf 1 Stunde in einen Brutschrank von 37° C gestellt, dann zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit vier weißen Mäusen, M 12—15, subkutan injiziert. Am 12. Februar wurde als Kontrolle das Zwerchfell einer gesunden weißen Maus, M 7 (vgl. Tabelle XII), in physiologischer Kochsalzlösung zer-

zupft, ebenfalls 1 Stunde im Brutschrank bei 37° C gehalten, zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit einer weißen Maus, M 20, subkutan injiziert. Die Injektionen nahm Herr Dr. Poppe vor, wofür ich ihm auch hier bestens danken möchte. Das Ergebnis des Versuchs zeigt Tabelle XV.

Tabelle XV.
Injektionen am 11. November 1913.

Nummer	Injizierte Flüssigkeit	Dosis	Bemerkungen
M 12	Kochsalzlösung-Extrakt aus Trichinen	0,1	Am 12. Februar Lähmungen, stirbt Nacht 12./13. Februar, Herzblut steril.
M 13		0,1	Stirbt 24. Februar, Herzblut steril.
M 14		0,2	Am 12. Februar Lähmungen, stirbt Nacht 13./14. Februar, Herzblut steril.
M 15		0,2	Bleibt am Leben.
M 20	Kochsalzlösung-Extrakt aus gesunder Zwerchfell-Muskulatur	0,5	Kontrolle, bleibt am Leben.

Von den 4 am 11. Februar nachmittags in Versuch genommenen Mäusen zeigten 2 am nächsten Vormittag die schon bei den weißen Mäusen M 4 und M 5 (S. 586) und bei der grauen Ratte R 24 (S. 588) beobachteten schweren Lähmungserscheinungen; sie lagen mit lang ausgestreckten Hinterbeinen auf der Seite, die Bewegung der Beine geschah, wenn man die Tiere dazu nötigte, mit äußerster Langsamkeit; brachte man sie in normale Lage, so fielen sie bald nach einigen schwachen Bewegungsversuchen wieder auf die Seite. Bei diesen beiden Mäusen liegt sicher eine Vergiftung durch die von den Trichinen abgeschiedenen Toxine vor, die nach $1^1/_2$ und $2^1/_2$ Tagen zum Tode führte. Bakterielle Infektionen kommen als Todesursache nicht in Frage, da das Herzblut der Mäuse auf Agarausstrichen immer steril gefunden wurde. Merkwürdig ist, daß M 15 ganz ohne Erscheinungen blieb; und auch der nach 13 Tagen erfolgte Tod von M 13 dürfte kaum auf die Injektion vom 11. Februar zurückzuführen sein.

Die Kontrollmaus blieb trotz der sehr großen zur Injektion verwendeten Dosis gesund.

Nach diesen Versuchen wurde geprüft, ob eine weitere Toxinabscheidung durch die Trichinen stattfände. Zu diesem Zweck wurde am 11. Februar die abgegossene Kochsalzlösung sofort durch neue ersetzt, aufgeschüttelt und darauf 24 Stunden in den Eisschrank gestellt. Am 12. Februar nachmittags wurde zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit 4 weißen Mäusen, M 16—19, subkutan injiziert. Das Ergebnis des Versuches ist aus Tabelle XVI (S. 591) zu ersehen.

Lähmungserscheinungen wurden bei keiner dieser Mäuse beobachtet. Trotzdem möchte ich den nach $2^1/_2$ Tagen erfolgten Tod von M 19 auf die Toxinwirkung zurückführen, da eine andere Todesursache nicht festzustellen war. M 16 starb erst nach $5^1/_2$ Tagen; hier können Zweifel entstehen, ob ein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Injektion und dem Eintritt des Todes vorliegt. Das Ergebnis des Ver-

Tabelle XVI.

Injektionen am 12. Februar 1913.

Nummer	Injizierte Flüssigkeit	Dosis	Bemerkungen
M 16	Zweiter Kochsalzlösung-Extrakt aus Trichinen während 24-stündigen Aufenthalts im Eisschrank	0,1	Stirbt Nacht 17./18. Februar, Herzblut steril
M 17		0,1	Bleibt am Leben.
M 18		0,2	Bleibt am Leben.
M 19		0,2	Stirbt Nacht 14./15. Februar, Herzblut steril.

suches zeigt, daß während des 24-stündigen Aufenthalts im Eisschrank nur eine geringe Toxinabscheidung durch die Trichinen stattgefunden hat.

Um diese zu verstärken, wurde schließlich noch ein Versuch angestellt. Die Trichinen in den Zentrifugengläsern wurden nach dem Abgießen der Kochsalzlösung am 12. Februar erneut mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen, dann 24 Stunden in den Eisschrank gestellt und hierauf 2 Stunden im Brutschrank bei 37° C gehalten. Es ergab sich, daß noch etwa 50—60 % der Trichinen am Leben waren — also nach 2tägigem Aufenthalt in physiologischer Kochsalzlösung! Darauf kamen die Trichinen wieder 18 Stunden in den Eisschrank und endlich 5 Stunden in den Brutschrank bei 37° C. Sie hatten sich also im ganzen 42 Stunden im Eisschrank und 7 Stunden im Brutschrank befunden. Nachdem zentrifugiert war, wurde die überstehende Flüssigkeit am 14. Februar nachmittags 2 weißen Mäusen injiziert, der einen 0,1, der andern 0,2 subkutan. Beide blieben am Leben. Die Toxinabscheidung hatte sich also nach weiteren 2 Tagen dermaßen verringert, daß Todesfälle überhaupt nicht mehr eintraten.

So wenig umfangreich die geschilderten Versuche sind, so zeigen sie doch, daß die Muskeltrichinen Stoffe abscheiden, die für Mäuse toxisch wirken. Die auffallende Übereinstimmung im Verhalten der injizierten Mäuse M 12 und M 14 kurz vor dem Tode mit den Erscheinungen, die bei den an Darmtrichinose eingegangenen Mäusen M 4 und M 5 und bei der Ratte R 24 beobachtet wurden — schwere Lähmungen, langer Todeskampf —, berechtigt zu der Annahme, daß die Darmtrichinen die gleichen toxischen Stoffe wie die Muskeltrichinen abscheiden. Der Tod an Darmtrichinose ist demnach die Folge einer Intoxikation; das gleiche gilt von den Todesfällen, die während der Einwanderung der jungen Trichinen in die Muskulatur eintreten.

Leider ist es mir infolge Übernahme anderer Arbeiten und besonders durch meine Abreise nach Kamerun nicht möglich gewesen, den soeben geschilderten Untersuchungen eine breitere Basis zu geben. Ich glaube aber, daß die von mir angewendete Methode geeignet ist, die Toxinfrage bei der Trichinose zu lösen. Auf einige Punkte, die einer Prüfung wert sind, und zu deren Bearbeitung ich nicht mehr gekommen bin, möchte ich noch hinweisen:

1. Es sind Injektionen vorzunehmen mit dem aus dem trichinisierten Muskel erhaltenen ersten Kochsalzlösung-Extrakt;
2. Die erste Aufschwemmung, die neben den Trichinen noch Muskelfasern enthält, ist zu zentrifugieren, die überstehende Flüssigkeit abzugießen und so lange durch frische Kochsalzlösung zu ersetzen, bis eine reine Trichinenaufschwemmung in Kochsalzlösung vorliegt. Diese ist einige Stunden im Brutschrank bei 37° C zu halten, dann zu zentrifugieren und das Zentrifugat zu injizieren.

Der nach Punkt 1 erhaltene Extrakt wird wahrscheinlich stärker toxisch wirken als der nach Punkt 2, weil in ihm von den Trichinen aufgespeicherte Toxine enthalten sein dürften.

3. Mit einem als wirksam erkannten Extrakt sind Imunisierungsversuche an Ratten und Mäusen vorzunehmen. Die Tiere sind mit geringen Dosen vorzubehandeln und dann teils mit der tödlichen Dosis zu spritzen, teils mit Trichinenfleisch zu füttern. Es ist sowohl zu prüfen, ob bei Verabreichung der Dosis mortalis der Tod infolge Darmtrichinose ausbleibt als auch, ob der Tod während der Einwanderung der jungen Trichinen in die Muskulatur verhindert werden kann. Eine vollkommene Immunisierung gegen Trichinen dürfte wohl kaum möglich sein.

Ergebnisse der Untersuchungen.

Die von Stäubli angegebene hohe Empfindlichkeit der Ratten gegenüber der Darmtrichinose konnte ich durch meine Versuche in vollem Umfange bestätigen. Die entgegenstehenden Angaben Ströses sind dadurch zu erklären, daß er mit mehrmaligen kleinen Dosen und in Zwischenräumen, statt mit einmaliger großer Dosis gefüttert und statt trichinösen Rattenfleisches Schweinefleisch verwendet hat. Außerdem glaube ich, daß er bei seinen beiden Ratten (Nr. 1 und 2) die — vielleicht geringfügigen — charakteristischen Veränderungen am Darm übersehen hat; ich zweifle nicht daran, daß diese beiden Ratten der Darmtrichinose und nicht der Gefangenschaft erlegen sind. Nimmt man zu Stäublis und meinen Erfahrungen noch die von Rissling und Raebiger hinzu, so kann kein Zweifel mehr bestehen, daß die Ratten gegenüber der Darmtrichinose eine große Empfindlichkeit aufweisen.

Damit ist jedoch die Frage nach der Empfindlichkeit der Ratten gegenüber der Trichineninfektion nicht erschöpft. Ich konnte zeigen (bes. Tabelle VII), daß die Ratten auch den Einwirkungen der jungen Muskeltrichinen gegenüber recht wenig widerstandsfähig sind. Wie bei der Darmtrichinose, so erfolgt auch hier die Mehrzahl der Todesfälle in einem ziemlich scharf begrenzten Zeitraum, den ich als „kritische Zeit" bezeichnen will. Bei der Darmtrichinose liegt die kritische Zeit zwischen dem 2.—4., bei der Muskeltrichinose zwischen dem 23.—26. Tage nach der Fütterung. In Ausnahmefällen kann der Tod infolge Darmtrichinose bis zu 10 Tagen nach der Fütterung eintreten; der Tod infolge Muskeltrichinose erfolgte in einem Falle bereits nach 15 Tagen, in je einem Falle erst nach 29 und 31 Tagen. Einmal erlag eine Ratte den Einwirkungen der Muskeltrichinen erst nach 70 Tagen. Solche Todesfälle dürften jedoch Ausnahmen sein. Hier möchte ich eine Angabe Stäublis berichtigen, die sich mit meinen Erfahrungen nicht in Einklang bringen läßt. Er sagt (1913, S. 94): „Überleben die Ratten die Darmtrichinose, so sterben sie verhältnismäßig selten in späterer Zeit . . ." Dieser Satz ist nur dann richtig, wenn man Todesfälle, wie den zuletzt erwähnten (nach 70 Tagen) im Auge hat; er berücksichtigt dagegen nicht die Todesfälle während der Einwanderung der jungen Trichinen in die Muskulatur. Solche Todesfälle hat auch Stäubli gehabt, z. B. (1911, S. 7) eine weiße Ratte und zwei Meerschweinchen; er sagt darüber selbst: „Die Ratte starb zu Beginn der Embryonenpropagation, von den Meerschweinchen das eine zu Beginn, das andere auf dem Höhepunkt der Einwanderung in die Muskeln." Er stellt diese Todesfälle zu-

sammen mit dem einer Ratte, die „in der Phase der reinen Darmtrichinose" gestorben ist. Nach meinen Erfahrungen möchte ich sie gerade dieser Ratte gegenüberstellen und annehmen, daß an ihrem Tode die Muskeltrichinose schuld ist. Das 17 Tage nach der Fütterung gestorbene Meerschweinchen gehört sicher in die kritische Zeit der Muskeltrichinose, bei der die Todesfälle in der Hauptsache zwischen dem 23. bis 26. Tage nach der Fütterung erfolgen. Über die Ursache der 11 Tage nach der Fütterung erfolgten Todesfälle des zweiten Meerschweinchens und der Ratte kann man geteilter Meinung sein. Ich möchte ihren Tod deshalb auf Muskeltrichinose zurückführen, weil die Todesfälle infolge Darmtrichinose vom 4. Tage nach der Fütterung bedeutend seltener werden; von den in meinen Tabellen angeführten Ratten und Mäusen starben an Darmtrichinose zwischen 2—4 Tagen 13 Stück, am 1. und vom 5.—10. Tage insgesamt nur 7 Stück. Ich glaube, daß hier der durch die Darmtrichinose bereits geschwächte Körper den erneuten Toxineinwirkungen während der Einwanderung der Trichinenembryonen in die Muskulatur erliegt. Hierauf kann vielleicht auch das Verhalten der Ratte R6 in Tabelle IV hinweisen, die — ein besonders kräftiges Männchen — 3 Tage nach der Fütterung offenbar schwer krank war, sich dann scheinbar erholte, aber am 8. Tage nach der Fütterung einging, d. h. zu einer Zeit, wo man im Blute bereits eine sehr große Zahl junger Trichinen findet.

Als Ursache für die Todesfälle infolge Darm- und Muskeltrichinose kommen Toxine in Betracht, die von den Trichinen abgeschieden werden. Darauf weist schon die Tatsache hin, daß lediglich die Zahl der verabreichten Trichinen, nicht aber die Menge des Fleisches für das Ergebnis der Fütterung entscheidend ist. So starb Ratte WR6 (Tabelle V), die nur 1,2 g Trichinenfleisch bekommen hatte, an Darmtrichinose, während Ratte R7 (Tabelle VI) am Leben blieb, trotzdem sie etwa 9 g aufgenommen hatte. WR6 hatte aber mit 1,2 g Fleisch 16000 Trichinen verzehrt, während die 9 g von R7 nur etwa 3500 enthielten. Meine Tabellen, besonders Tabellen IV und VII, zeigen deutlich, daß eine ganz bestimmte Trichinenzahl — bei Verwendung von trichinösem Schweinefleisch etwa 350, bei Rattenfleisch etwa 8000 Trichinen — den Tod der Ratten infolge Darmtrichinose herbeiführen; für Mäuse genügen bei Verwendung von trichinösem Rattenfleisch etwa 1200 Trichinen. Alle Versuchstiere, die mehr als diese „Dosis mortalis" erhalten hatten, gingen an Darmtrichinose ein (vergl. Tabelle IV); diejenigen, die weniger bekommen hatten, erlagen zum Teil der Muskeltrichinose (Tabelle VII) und nur ein geringer Teil blieb am Leben und erwarb Muskeltrichinen. Endlich zeigen meine Tabellen, daß es für den Ausgang des Versuchs belanglos ist, ob man das Fleisch im Verhältnis zum Körpergewicht des Versuchstieres dosiert: Tabelle IV zeigt, daß Ratte R5 die Darmtrichinose überstand, obwohl sie prozentual mehr Fleisch bekommen hatte, als R3 und R4, nämlich 3 g gegenüber 2 und 2,5 g auf je 100 g Körpergewicht. R5 hatte aber im ganzen nur 7500 Trichinen erhalten, während R3 und R4 entsprechend 7900 und 7700 bekommen hatten.

Auf eine toxische Wirkung der Trichinen weisen ferner die Erscheinungen beim Tode trichinisierter Ratten und Mäuse hin: schwere Lähmungen, langer Todeskampf. Unter gleichen Erscheinungen sah ich Mäuse sterben, die ich mit einer Kochsalzlösung

subkutan injiziert hatte, in der ich 1 Stunde lang unverkapselte Muskeltrichinen bei 37° C gehalten hatte. Ich glaube, daß mir dadurch der Nachweis der durch die Trichinen abgeschiedenen Toxine gelungen ist; indessen bedürfen meine Angaben noch der Bestätigung durch Versuche auf breiterer Grundlage.

Infolge ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Darm- und Muskeltrichinose kann die Ratte die Erhaltung der Art der Trichine nicht gewährleisten. Über die Rolle, die die Ratte in der Arterhaltung der Trichinen spielt, hat Stäubli (1911) folgendes gesagt:

„1. Infiziert sich eine Ratte an trichinigem Schweinefleisch, so wird sie häufig die Infektion überstehen, da das Schweinefleisch selten so stark trichinig ist, um in der Menge, die von einer Ratte verzehrt wird, den Tod der letzteren herbeizuführen. Bleibt die Ratte am Leben, so kommen in ihr nun massenhaft Muskeltrichinen zur Entwicklung.

2. Stirbt diese Ratte und wird sie nun von ihren Artgenossen aufgefressen, so gehen diese wohl in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle in der Phase der Darmtrichinose zugrunde. Die Darmtrichinen vermögen aber nicht zu infizieren. Es wird also die Generationsfolge unterbrochen.

3. Wird jene Ratte (1) aber von einem Schwein aufgefressen, so bleibt dieses (infolge der bekannten relativ geringen Neigung der Schweine zu schwerer Erkrankung) wohl meist am Leben und bringt Muskeltrichinen zur Entwicklung."

Diese Angaben sind richtig, bedürfen aber nach meinen Ergebnissen einer Erweiterung, da die Ratten der Trichineninfektion gegenüber noch hinfälliger sind, als Stäubli annahm. Insbesondere fehlen die Todesfälle infolge Muskeltrichinose, die in der Hauptsache zwischen dem 23.—26. Tage nach der Infektion eintreten.

Zu Punkt 1 bemerke ich: Die Todesfälle infolge Darm- und Muskeltrichinose bei Aufnahme von Schweinefleisch dürften häufiger sein, als Stäubli annimmt. Denn da die Dosis mortalis nach meinen Untersuchungen etwa 350 Trichinen beträgt und auch Rissling gefunden hat, daß bereits bohnengroße Stücke trichinösen Schweinefleisches den Tod an Darmtrichinose bewirken können, so dürften hier zum mindesten ziemlich viele Todesfälle an Muskeltrichinose vorkommen und bei stark trichinösem Schweinefleisch auch wohl recht viele an Darmtrichinose.

Zu Punkt 2: Hier fehlen ebenfalls die Todesfälle infolge Muskeltrichinose zwischen dem 23.—26. Tage nach der Infektion. Der Vorgang stellt sich darnach in folgender Weise dar: Stirbt eine Ratte und wird von ihren Artgenossen gefressen, so erliegt ein sehr großer Teil der Darmtrichinose. Damit ist die Generationsfolge unterbrochen, denn Darmtrichinen sind nicht infektionsfähig. Ein zweiter Teil erliegt der Muskeltrichinose. Damit ist die Generationsfolge nicht völlig unterbrochen wie im ersten Fall; denn nach den Versuchen von Raebiger (1911) sind die unverkapselten zusammengerollten Trichinen infektionsfähig. Allerdings sind an früher Muskeltrichinose verendete Ratten stets außerordentlich stark trichinös, und wenn sie nach ihrem Tode von ihren Artgenossen verzehrt werden, so verursachen sie im allgemeinen stets deren Tod durch Darmtrichinose. Da aber stets auch die Möglichkeit besteht, daß einzelne Ratten nur ganz geringe Mengen Fleisches aufnehmen, so muß bei dieser Gruppe damit gerechnet werden, daß einzelne Tiere Trichinen erwerben und so die Art erhalten können.

Beim Übergang der Trichinen von Ratte zu Ratte müssen wir also stets mit einer großen Zahl von Todesfällen infolge Darmtrichinose und einer andern ebenfalls großen Zahl infolge Muskeltrichinose rechnen. Die Zahl der Ratten, die neuerdings Träger von Muskeltrichinen werden und damit die Art erhalten, ist demgegenüber eine verhältnismäßig geringe.

Daraus geht hervor, daß die Ratte als Arterhalter der Trichine nicht geeignet ist. Vom Schwein ist dagegen eine derartige Empfindlichkeit gegenüber den Trichinen nicht bekannt. Die am Anfang dieser Arbeit aufgeführte Behauptung Leuckarts, „daß es der Zwischenkunft der Schweine nicht notwendig bedarf, um die Existenz der Trichinen zu erhalten", läßt sich nicht aufrecht erhalten. Der eigentliche Arterhalter der Trichinen ist das Schwein, die Ratte stellt in dieser Hinsicht nur einen Seitenweg dar, sie spielt, wie Stäubli sagt, mehr die Rolle eines Zwischenträgers.

Das Ergebnis meiner Arbeit spricht erneut für eine strenge Durchführung der Trichinenschau; denn wenn das Schwein allein mit Sicherheit die Erhaltung der Trichinen verbürgt, so müssen wir unser Augenmerk auch in erster Linie hierauf richten. Unter den Ratten verhindern allein schon Darm- und Muskeltrichinose ein Überhandnehmen der trichinösen Individuen.

Trotzdem ist die Ratte als Zwischenträger der Trichinen nicht ganz bedeutungslos; und beim Auftreten von trichinösen Schweinen sollte in den betreffenden Gehöften immer eine energische Rattenvertilgung vorgenommen werden. Aber die Ratte spielt bei weitem nicht die Rolle, die man erwarten müßte, wenn die Rattentheorie Leuckarts zu Recht bestünde. Darauf weisen auch die Ergebnisse der obligatorischen Trichinenschau in Preußen und Sachsen hin, wo seit ihrer Einführung ein ständiges Sinken der Prozentzahl trichinöser Schweine festgestellt werden konnte. Dieser Erfolg hätte nicht erzielt werden können, wenn die Ratte in der gleichen Weise als Trichinenwirt geeignet wäre wie das Schwein.

Literaturverzeichnis.

Leuckart, R., Die menschlichen Parasiten. Leipzig und Heidelberg 1863. 1876.

Ostertag, R., Vermögen Darmtrichinen und wandernde Trichinen auf einen neuen Wirt überzugehen? Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg. 1898.

Raebiger, H., Untersuchungen über die Trichinenkrankheiten und Versuche zur Bekämpfung derselben. Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere Bd. 9, 1911.

Rissling, Beiträge zur Infektion der Schweine mit Trichinellen, insbesondere zur Infektion des Kotes trichinöser Tiere. Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 14, 1910.

Romanovitch, Recherches sur la trichinose. Ann. de l'Inst. Pasteur. 1912.

Stäubli, C., Zur Kenntnis der Verbreitung der Trichinellen. Münch. med. Wochenschr., 56. Jahrg. 1909.

Derselbe, Trichinosis. Wiesbaden. Bergmann. 1909.

Derselbe, Über die Rolle von Schwein und Ratte als Trichinenwirte. Münch. med. Wochenschr. Nr. 39. 1911.

Derselbe, Trichinose. Handb. d. pathog. Mikroorg. 8. Bd. 1913.

Ströse, Die Übertragung der Trichinen auf das Schwein. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 33. 1909.

Vergleichende Untersuchungen über Choleraelektivnährböden.

Von

Dr. med. Erich Hesse,

Regierungsrat und Mitglied des Reichsgesundheitsamtes.

Wenn auch der im Jahre 1909 von Dieudonné (1) empfohlene Blutalkaliagar sich im theoretischen Laboratoriumsversuch vorzüglich bewährt und den praktischen Nachweis der Cholera außerordentlich gefördert hat, so haben doch einige ihm anhaftende Mängel, besonders die erst 18—24 Stunden nach dem Fertigstellen der Platten eintretende volle Gebrauchsfähigkeit und das gelegentlich störend wirkende Wachstum anderer Stuhlbakterien die Bestrebungen der Bakteriologen immer wieder darauf gerichtet, durch mehr oder minder erhebliche Abänderungen diese Nachteile abzustellen und damit eine erhöhte Sicherheit und Beschleunigung der Choleradiagnose zu erzielen.

Von den Vorschlägen, die nach dieser Richtung hin gemacht worden sind, verdienen besonders die Arbeiten von Neufeld und Woithe (2), Esch (3), Pilon (4), Moldavan (5) und Lentz (6) genannt zu werden; die Verfasser suchten durch Zusatz von Milchsäure, Verwendung von Sodalösung statt der Kalilauge, durch Ersatz des Blutes durch Hämoglobinpräparate, durch andere Mischungsverhältnisse sowie durch Herstellung von Trockenpräparaten den Dieudonnéschen Originalnährboden zu verbessern. Diese Modifikationen sind in großen Versuchsreihen von Haendel und Baerthlein (7) und von Baerthlein und Gildemeister (8) nachgeprüft und auf ihre Brauchbarkeit ausgewertet worden.

Baerthlein und Gildemeister haben sich bei ihren vergleichenden Untersuchungen weiterhin mit einem von Kabeshima (9) angegebenen Hämoglobinextrakt-Sodaagar beschäftigt und diesen als recht gut befunden. Seine Verwendbarkeit wurde jedoch dadurch beeinträchtigt, daß er infolge der nicht ausführbaren Sterilisierung des Hämoglobinextraktes nur von geringer Haltbarkeit ist und daß infolge von Alkalinitätsschwankungen, die in der Verwendung der leicht verwitternden und daher in ihrer Zusammensetzung schwankenden kristallisierten Soda bedingt sind, zuweilen auch Wachstumsschädigungen der Cholerabacillen zu beobachten sind. Durch Kochen mit der hierzu erforderlichen Mindestmenge von Kalilauge und weitere Alkalisierung mit der sich gleichbleibenden wasserfreien Soda gelang es Baerthlein und Gildemeister, die Nachteile des Kabeshimanährbodens auszuschalten und in ihrer Modifikation einen Agar zu empfehlen, der dem Dieudonné gegenüber die Vorteile sofortiger Verwendbarkeit und gesteigerter Elektivität, namentlich infolge Unterdrückung der häufig störenden Alkaligeneskolonien, besitzt.

Auf einige andere Vorschläge elektiver Choleranährboden von Köhlisch und Otto (10) (weißer Käse und Kalilauge), Esch (11) (Fleischnatronlaugeagar), Lange (12), (Reisstärke-Sodaagar), auf die Verwendung von Ochsengalle mit Sodazusatz (Ottolenghi (13)) und von Bouillon mit Blutalkalibeimischung (Kraus, Zecki Zia und Zubrcziky (14)) sei nur der Vollständigkeit halber verwiesen, da sie für die weiteren Ausführungen nicht in Betracht kommen.

Von einem anderen Gedanken, die bakteriologieche Choleradiagnose mit einem schnell und sicher arbeitenden Elektivnährboden zu erleichtern, ist Aroneon (15) ausgegangen; er machte die rohrzuckerspaltende Eigenschaft des Choleravibrio für die Farbreaktion eines stark alkalischen Fuchsinagars in entsprechender Weise nutzbar, wie sie Endo für die Unterscheidung der Keime der Coli-Typhusgruppe angewandt hat.

Aronson stellte seinen Nährboden in folgender Weise her: 35 g Agar werden mit einem Liter Leitungswasser in 'einem Kolben übergossen und am nächsten Tage 10 g Fleischextrakt, 10 g Pepton-Witte und 5 g Kochsalz zugesetzt. Nunmehr gelangt der Kolben für 4—5 Stunden in den Dampftopf. Auf ein Filtrieren verzichtet Aronson, er läßt die nicht gelösten Bestandteile durch Schrägstellen des Kolbens absetzen und füllt den so geklärten Nährstoff in sterile Erlenmeyerkolben von 200—250 ccm. Von diesem schwach sauer reagierenden, noch heißen Agar werden 100 ccm mit 6 ccm einer 10 %igen Lösung von Natrium carbonicum siccum versetzt und für 10—15 Minuten im strömenden Dampfe sterilisiert. Alsdann fügt er je 5 ccm einer sterilen 20 %igen Rohrzuckerlösung und einer sterilen 20 %igen Dextrinlösung und 0,4 ccm einer gesättigten alkoholischen Lösung von Diamantfuchsin zu. Den hochroten Agar entfärbt er durch Zusatz von etwa 2 ccm einer frisch hergestellten 10 %igen Lösung von Natriumsulfit.

Der Nährboden ist sofort verwendbar und besitzt nach Aronson die weiteren Vorteile, daß er in hohem Maße elektiv wirkt, das Cholerawachstum begünstigt und eine schnelle und sichere Beurteilung der leuchtend roten, großen und saftigen Cholerakolonien ermöglicht. Die Morphologie, Färbbarkeit und Agglutinierbarkeit soll in keiner Weise beeinträchtigt werden. Aronson hat seinen Nährboden sowohl an Laboratoriumsstämmen als auch an frisch aus dem Stuhle gezüchteten Choleravibrionen geprüft; er hat dabei festgestellt, daß ältere Laboratoriumsstämme nicht mehr so intensiv rot wachsen wie frisch gezüchtete, daß demnach das Zuckerspaltungsvermögen bei den nicht mehr voll lebensfrischen Stämmen abnimmt. Weiterhin konnte er beobachten, daß einige Coliarten, namentlich wenn pathologische Stühle verarbeitet wurden, ebenfalls intensiv rot wachsen und daß somit die Gefahr einer Verwechslung mit Cholera ohne weitere Prüfung gelegentlich möglich ist. Im übrigen will er aber mit seinem Nährboden außerordentlich günstige Erfahrungen gemacht haben. Zur Vereinfachung der Herstellung empfiehlt er ferner (16) die Verwendung von Tabletten, die, von der Firma E. Merck in den Handel gebracht, alle erforderlichen Bestandteile in der für 100 ccm Agar benötigten Menge enthalten. Da nunmehr die Zubereitung des Nährbodens nur noch darin besteht, eine Tablette in 100 ccm heißen Agars, wozu auch Ragitagar verwandt werden kann, zu lösen, so sind die Vorarbeiten auf die einfachsten Handgriffe beschränkt und der Nährboden gewinnt eine ganz besondere Bedeutung für solche Laboratorien, denen Hilfskräfte und Einrichtungsgegenstände nur in beschränkterem Maße zur Verfügung stehen.

Es war zu erwarten, daß die von Aronson gerühmten Vorzüge seines Nährbodens, zumal dieser ein neues Prinzip in die Choleradiagnose einführte, bald zu Nachprüfungen des Verfahrens Anlaß geben würden. Über solche berichten zunächst Schürmann und Fellmer (17). Sie haben mit Stühlen gearbeitet, die künstlich mit Cholerabacillen infiziert waren und haben dabei sehr günstige Ergebnisse gehabt. Die Kolonien waren charakteristisch, die Begleitkeime wurden mehr als durch den Dieudonnéagar unterdrückt und die Agglutinationsfähigkeit und Beweglichkeit waren nicht beeinträchtigt.

Weniger günstig lauten die Angaben Böttichers (18). Auch er erkennt das charakteristische Wachstum der Cholerakolonien an, die von anderen, namentlich von den in choleraverdächtigen Stühlen häufig vorhandenen ebenfalls rot wachsenden Staphylokokken und Streptokokken leicht zu unterscheiden seien. Aber er stellte weiterhin fest, daß infolge der hohen Alkaleszenz auch das Wachstum der Cholerakeime erheblich gehemmt wird und daß diese schädigende Eigenschaft erst bei vermindertem Sodazusatz (5,0—5,5 ccm auf 100 ccm Agar) wieder aufgehoben wird. Ging er mit der Sodamenge noch weiter herunter, so zeigte sich bei nur 4 ccm, daß die Colibacillen überhaupt nicht mehr gehemmt werden und daß auch die Cholerakolonien nicht mehr so schön und charakteristisch zur Entwicklung kamen. Trotz der herabgesetzten Alkaleszenz bleibt nach Böttichers Ansicht der Aronsonsche Nährboden hinter dem Blutalkaliagar Dieudonnés zurück.

Eine weitgehende Elektivität rühmt Stern (19) dem Aronsonschen Fuchsinagar nach; er fand diese größer als beim Dieudonnéschen und Eschschen Nährboden. Auch er beobachtete eine Anzahl von anderen Keimen, die rote Kolonien bildeten. Es handelte sich, wie die Prüfung

ergab, vornehmlich um Colibacillen; wenn deren Kolonien an ihrer Form und Größe sofort von Cholera zu unterscheiden seien, so könne einer Verwechslung auch durch Berücksichtigung des Umstandes vorgebengt werden, daß die Cholera bereits nach 24 Stunden, die Colibakterien aber im allgemeinen erst nach der doppelten Zeit rote Kolonien bildeten. Aber auch diese könnten schon nach 24 Stunden einen roten Farbton aufweisen, wenn nämlich bei gewissen Diarrhöen die glykolytischen Fermente vermehrt und die Bakterien in ihrer Virulenz erhöht seien.

Die gleiche Beobachtung, daß einzelne Colistämme auf dem Aronsonagar infolge ihres roten Wachstums die Sicherheit der Diagnose herabsetzten, veranlaßte nun Seiffert und Bamberger (20), eine Erhöhung der Elektivität des Nährbodens anzustreben. Diese durch Beigabe von Blut oder Hämoglobinpräparaten, die einerseits die Begleitbakterien hemmen, das Cholerawachstum anderseits fördern sollten, herbeizuführen, erschien ihnen wegen der durch einen derartigen Zusatz notwendigerweise eintretenden Verschleierung der Farbreaktion nicht angängig. Sie suchten daher nach einem dem Hämoglobin chemisch nahestehenden Ersatzkörper, der keinen erheblichen Einfluß auf das Aussehen des Agars bedingte, und glauben im Chlorophyll einen Stoff gefunden zu haben, der ihren Forderungen entsprach. Zur Bereitung des Nährbodens geben sie folgende Vorschrift: 60 ccm 10%ige Sodalösung (Na. carbon. siccum) werden mit 25 ccm Chlorophyllösung (Solutio spirituosa Merck) eine Stunde im Dampftopf erhitzt und mit je 50 ccm steriler 20%iger Rohrzuckerlösung, steriler 20%iger Dextrinlösung und einem Liter Neutralagar vermischt. Diesem werden nun 4 ccm gesättigter alkoholischer Diamantfuchsinlösung beigefügt; für die Entfärbung sind etwa 15 ccm einer frischbereiteten 10%igen Lösung von Natriumsulfit erforderlich. Der nahezu farblose Nährboden kann sofort gebraucht werden, ist aber nach Möglichkeit immer frisch zu bereiten, da er ein häufiges Erhitzen nicht verträgt.

Nach den Angaben der Verfasser ist ihr Agar dem Aronsonschen bezüglich der Elektivität weit überlegen, da er bei Förderung des Cholerawachstums die Begleitbakterien fast völlig unterdrücken soll. Die Morphologie, Färbbarkeit und Agglutinierbarkeit der Cholerakulturen werde in keiner Weise ungünstig beeinflußt.

Baumgarten und Langer-Zuckerkandl (21) haben die Vorschläge von Seiffert und Bamberger einer Nachprüfung unterzogen und deren Nährboden mit dem Aronsonschen verglichen. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß der Seiffert-Bambergersche Chlorophyllagar dem Aronson gegenüber keine erhöhte Elektivität besitzt, daß insonderheit der Chlorophyllzusatz die auch das Cholerawachstum hemmende Wirkung des über das Alkalinitätsoptimum hinausgehenden Sodazusatzes nicht aufhebt, daß dem Chlorophyll irgend ein Einfluß auf das Bakterienwachstum überhaupt nicht zukommt. Wenn aber schon der Original-Aronson infolge seiner hohen Alkaleszenz auch auf die Cholerakeime einen zweifellos hemmenden Einfluß ausübe, so werde dieser noch verstärkt infolge der ohnehin höheren Alkaleszenz des Seiffert-Bambergerschen Agars, der im Gegensatz zu dem schwach sauren Aronsonrohagar mit einem neutralen Agar hergestellt werde. Die Cholerakolonien seien auf Aronson stets wesentlich besser gewachsen als auf dem Seiffert-Bambergerschen Chlorophyllnährboden, sie haben aber dennoch auch auf Aronson nicht die Üppigkeit erreicht, die sie auf dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar entwickelt hätten. Selbst bei einer Herabsetzung des Sodagehaltes auf 5—5,5 ccm (Bötticher) habe der Aronsonsche Agar die außerordentlich cholerafördernden Eigenschaften des Dieudonné nicht erreichen können. Eine Verbesserung des Aronsonschen Nährbodens glauben die Verfasser hingegen darin erblicken zu dürfen, daß sie die nach Aronson zuzusetzende 6 ccm Sodalösung mit Haemin sättigten; bei gleicher Elektivität und unbeeinträchtigter Farbreaktion ergab sich hierdurch ein erheblich kräftigeres Cholerawachstum. Die Verfasser haben ebenfalls nur mit künstlichen Cholerastühlen arbeiten können und geben der Ansicht Ausdruck, daß unter natürlichen Verhältnissen die Ergebnisse vielleicht günstiger ausgefallen sein würden.

Bei der hohen Bedeutung, die nach Durchbrechung unserer in sanitärer Hinsicht früher mustergültigen Grenzsperre und der nunmehr bestehenden erhöhten Einschleppungsgefahr seuchenartiger Erkrankungen der Beschleunigung und Sicherung der Choleradiagnose zukommt, habe ich die am wichtigsten erscheinenden der oben genannten Elektivnährböden in größeren Versuchsreihen auf ihre Brauchbarkeit vergleichend nachgeprüft. Für diese Untersuchungen wurden herangezogen der Aronson-

sche Fuchsinagar in seiner ursprünglichen Form und mit Merckschen Tabletten zubereitet, der von Seiffert und Bamberger angegebene Chlorophyllfuchsinagar, der Dieudonnésche und der Baerthlein-Gildemeistersche Blutalkaliagar. Ich habe anschließend noch eine Reihe von Versuchen ausgeführt, die sich unter Anlehnung an das Aronsonsche Verfahren auf eine Prüfung anderer Leukobasen und auf die Möglichkeit einer Verbindung des gleichen Prinzips mit dem Peptonwasserverfahren erstreckten; hierüber soll später berichtet werden. Für meine Untersuchungen standen mir nur Cholerastämme zur Verfügung, die schon längere Zeit im Laboratorium auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet waren.

Ich hielt es zunächst für notwendig, eine Reihe von Versuchen mit Reinkulturen anzustellen, einmal um die theoretischen Grundlagen und Eigenschaften der verschiedenen Nährböden zu studieren und die Art der Kolonienbildung der Rein kulturen der verschiedenen Stämme auf den einzelnen Nährböden genau zu verfolgen. Diese Versuche wurden sowohl in dicker Aussaat, d. h. unter Ausstreichen der mit Cholerakultur beschickten Platinöse, als auch, zwecks Erzielung von Einzelkolonien, mit sehr spärlichem Material unter Verreiben mit dem Glasspatel angelegt. Zur Verwendung kamen insgesamt neun verschiedene Cholerastämme, die auf gewöhnlichem Agar durchweg ein gleichmäßig üppiges Wachstum zeigten.

Während nun eine Anzahl dieser Kulturen sowohl auf dem Originalaronson als auch auf dem mit Tabletten hergestellten Nährboden sehr saftig wuchsen und nach 20stündiger Bebrütung durch ihre hochrote Farbe einen kräftigen Zuckerabbau erkennen ließen, waren andere nur blaßrot oder schwach rosa gefärbt, einzelne überhaupt nicht gewachsen. Durch wiederholte Versuche wurde nun mit Sicherheit ermittelt, daß es immer dieselben Stämme waren, deren spärliches oder völlig fehlendes Wachstum wohl dafür sprach, daß sie in dem gebotenen Nährmedium anscheinend keine zusagenden Lebensbedingungen fanden. Die Parallelversuche mit dem Seiffert-Bambergerschen Nährboden lieferten nahezu das gleiche Ergebnis, jedoch war auf ihm die Zahl der nicht oder schlecht wachsenden Cholerastämme noch größer: Kulturen, die auf Aronson noch ein mäßig gutes Wachstum zeigten, ließen hier deutliche Hemmung erkennen. Wurden nun mit dem gleichen Material der Dieudonné-Agar oder der Blutsodanährboden von Baerthlein-Gildemeister beimpft, so lieferten sämtliche Stämme einen üppigen, saftigen, rauchbraunen und stark glänzenden Kulturrasen.

Die nämlichen Ergebnisse habe ich bei spärlicher Aussaat mit dem Glasspatel beobachtet, wobei die hemmenden oder fördernden Einflüsse der verschiedenen Nährmedien auf Grund der ausgezählten Kolonien sehr viel sicherer beurteilt werden konnten. Es trat denn auch bei diesen Versuchen die große Überlegenheit des Baerthlein-Gildemeisterschen Nährbodens in Erscheinung; er zeigte fast durchweg mehr Kolonien als der Dieudonné. Besonders auffallend aber war der Vergleich mit Aronson, auf dem meist ein um das Mehrfache geringeres Wachstum zu verzeichnen war, während auf Seiffert-Bamberger noch weniger Keime zur Entwicklung kamen. Die beobachteten Unterschiede gingen wiederholt so weit, daß Aronson und Seiffert-Bamberger völlig steril blieben, während auf den beiden

Blutalkalinährböden hundert und mehr Kolonien gewachsen waren, trotzdem für diese Versuche nur solche Cholerastämme verwandt wurden, die bei den vorausgegangenen Prüfungen in dicker Aussaat auf den Fuchsinsodanährböden ein gutes Wachstum gezeigt hatten.

Diese auffallenden Tatsachen haben mich nun veranlaßt, in größeren Versuchsreihen die Ursachen zu ermitteln, die für das ungünstige Cholerawachstum im allgemeinen und für das völlige Versagen bestimmter Stämme verantwortlich zu machen sind. Denn daß allein die starke Alkaleszenz einen so ungemein großen Einfluß auf das Wachstum mancher Laboratoriumskulturen haben sollte, konnte ich mir, selbst im Hinblick auf gleichartige Beobachtungen anderer Forscher, zunächst nicht vorstellen. Ich habe daraufhin eine ganze Reihe verschiedener Agararten durchgeprüft, die nach den verschiedensten Vorschriften zubereitet waren, ich habe stufenweise die verschiedenen Bestandteile des Aronsonagars, als gewöhnliche Handelsware und im chemisch reinen Zustande zugesetzt und habe die verschiedenen Cholerastämme auf allen diesen fertigen und halbfertigen Produkten ausgeprüft, aber immer wieder und mit völliger Eindeutigkeit konnte ich feststellen, daß nur der Alkaleszenzgrad es ist, der von so einschneidender Bedeutung für das Wachstum der Cholera ist. Denn während von meinen Stämmen bei spärlicher Aussaat eine ganze Anzahl auf Aronson und Seiffert-Bamberger nicht oder nur schlecht wuchsen, wurden die gleichen Kulturen sofort zum Aufgehen gebracht, wenn ich statt der vorgeschriebenen 6 ccm Sodalösung zu 100 ccm Agar nur deren 4 oder 3 zusetzte. Von einigem Einfluß scheint allerdings auch die Art der verwandten Soda zu sein: es zeigte sich nämlich, daß bei Benutzung des chemisch-reinen Präparates das Cholerawachstum besser, vor allem auch gleichmäßiger war als bei der gewöhnlichen Handelsware (Na. carbon. sicc.). Diese Beobachtungen habe ich dann den weiteren Versuchen zugrunde gelegt und habe, da auch die am besten wachsenden Cholerakulturen durch 6, sogar durch 5 ccm Sodazusatz noch sehr erheblich gehemmt wurden oder bei geringer Aussaat überhaupt nicht zu Kolonien auswuchsen, in der Folge mit Mengen von 4, 3 und 2 ccm gearbeitet. Auf diese Weise konnten Alkaleszenzwerte ermittelt werden, die, wie später ausgeführt werden wird, die Brauchbarkeit der Fuchsinsodanährböden erheblich verbesserten, soweit meine mit künstlichen Cholerastühlen erhobenen Befunde nach dieser Richtung hin ein Urteil erlauben.

Hat sich also ergeben, daß das Cholerawachstum auf den Fuchsinnährböden im Vergleich zu dem auf Blutalkaliagar beobachteten quantitativ erheblich geschädigt wird, so bieten die auf dem fast farblosen und völlig durchsichtigen Untergrund bei charakteristischem Wachstum hochroten, saftigen und bis zu 3 mm im Durchmesser haltenden Kolonien ein äußerst bestechendes Bild. Und von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, muß das Aronsonsche Prinzip zweifellos als ein wertvoller Fortschritt auf dem Gebiete der Choleradiagnose bezeichnet werden. Das kokardenähnliche Wachstum, in der Mitte leicht erhaben und nach den Rändern zu wieder wulstartig verdickt, ist ein weiteres, der Cholerakolonie bei zusagendem Alkaligehalte stets eigentümliches Merkmal. Gerade diese letzte Beobachtung ist m. E. von besonderer

Wichtigkeit, da sie ein sichereres diagnostisches Hilfsmittel ist als die nicht immer zuverlässige Farbenreaktion.

Hinsichtlich der Agglutinierbarkeit, des morphologischen und färberischen Verhaltens der auf Aronson und Seiffert-Bamberger gewachsenen Choleravibrionen kann ich mich auf Grund meiner Befunde den Angaben von Schürmann und Fellmer, Bötticher und Seiffert und Bamberger nicht völlig anschließen: wenn auch morphologisch und färberisch zwischen den auf Fuchsinnährböden und gewöhnlichem Agar gewachsenen Vibrionen keine erheblichen Unterschiede bestanden, so lieferten doch die auf Agar und Blutalkaliagar gewachsenen Kulturen meist erheblich höhere Agglutinationswerte; ebenso war eine Beeinträchtigung der Beweglichkeit in dem aus Kondenswasser hergestellten hängenden Tropfen bei den Fuchsinkulturen unverkennbar. Die Beeinträchtigung war aber nicht so erheblich, daß dadurch die Stellung der Diagnose erschwert oder unmöglich gemacht worden wäre.

Diesen mit Cholerareinkulturen vorgenommenen Untersuchungen wurden auch einige gleichartige mit choleraähnlichen Bakterien angegliedert und zwar wurden verwandt die Vibrionen Elvers, Finkler, Metschnikoff und Petersburg. Es zeigte sich hierbei, daß der Aronsonsche Nährboden anscheinend in höherem Maße das Wachstum dieser Keime hemmt als der von Seiffert und Bamberger angegebene: während auf Aronson die vier genannten Stämme im allgemeinen spärlich und nur rosa wuchsen, kamen sie auf Seiffert-Bamberger bis auf Vibrio Elvers zu kräftiger Entwicklung mit ausgesprochener Rotfärbung. Jedenfalls können die Fuchsinnährböden eine Verwechslung dieser choleraähnlichen Vibrionen mit Cholera nicht ausschließen, ein Umstand, der die Notwendigkeit ergänzender serologischer und kultureller Untersuchungen darlegt.

Daß nun gerade diese Vibrionen ein dem Cholerabacillus sehr ähnliches Verhalten zeigen, darf nicht überraschen, da sie ihnen ja biologisch recht nahe stehen. Praktisch ist diese Tatsache besonders für die Wasseruntersuchung sehr wichtig, da im verunreinigten Flußwasser diese choleraähnlichen Vibrionen häufiger anzutreffen sind.

Für die Stuhluntersuchungen ist nun die Einwirkung der Nährböden auf die im Stuhle vorkommenden pathogenen und nicht pathogenen Keime von größerem Belang. Diese wurde geprüft bei einer Anzahl von Stämmen der Typhus-coli-Gruppe einschließlich Ruhr und Faecalis alkaligenes sowie an Staphylokokken. Wiederholte, in dicker Aussaat (Strichimpfung) vorgenommene Versuchsreihen lieferten die übereinstimmende Beobachtung, daß sowohl auf Aronson wie auf Seiffert-Bamberger, auch bei Zusatz von nur 2 und 3 ccm Sodalösung, die genannten Kulturen höchstens nur zu sehr spärlichem Wachstum kamen, daß somit gegen diese Keime, deren Wuchern für die Choleradiagnose sehr störend sein würde, die Fuchsinnährböden hinreichend elektiv wirken. Daß in Wirklichkeit die Verhältnisse etwas anders liegen, als man aus diesen theoretischen Versuchen zu folgern geneigt sein könnte, wird später erläutert werden. Bei den Prüfungen, die mit den genannten Kulturen auf dem Dieudonnéschen und Baerthlein-Gildemeisterschen Blutalkaliagar vorgenommen wurden, bot sich im wesentlichen der gleiche Befund: auch diese unterdrückten fast alle jene Stämme. Nur der Faecalis

alkaligenes, der auf Baerthlein-Gildemeister nicht zur Entwicklung kam, zeigte, in Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren, auf Dieudonné ein, wenn auch spärliches Wachstum. Abweichend von dem auf Fuchsinnährböden erhobenen Befunde zeigte ferner der Staphylococcus albus auf dem Blutalkaliagar (Dieudonné und Baerthlein-Gildemeister) ein üppiges Wachstum, welches auf den das Staphylokokkenwachstum begünstigenden Hämoglobingehalt zurückzuführen sein dürfte; eine Verwechslung des gelblichgrauen, schmierigen Rasens mit der durchscheinenden Cholerakultur ist jedoch nicht zu befürchten.

Um nun die Elektivität der zu prüfenden Nährböden in einer den praktischen Anforderungen nahe kommenden Form zu ermitteln, wurden Plattenreihen mit normalen und von Darmkranken stammenden Stühlen beimpft.

Bei einer größeren Zahl in dieser Weise angestellter Versuche zeigte sich, daß sowohl die Aronsonschen wie die Seiffert-Bambergerschen Platten, mit je einer Öse Stuhl beimpft, steril blieben, d. h., alle im Stuhl vorhandenen Keime, deren Zahl sich auf Grund der gleichzeitig angelegten Agar- und Drigalskiplatten auf mehrere Tausend belief, wurden unterdrückt. Es wäre dieses Ergebnis für den Nachweis der Cholera mit Hilfe der Fuchsinnährböden von hervorragender Bedeutung gewesen, wenn nicht, wie schon erwähnt, dieselben Nährmedien auch einen so ausgesprochen hemmenden Einfluß auf die Cholerabacillen ausüben würden. Es mußte daher, nachdem festgestellt war, daß die Hemmung des Cholerawachstums auf den hohen Alkaligehalt zurückzuführen ist,. mit dem Sodazusatz heruntergegangen und eine Stufe gesucht werden, die bei einer noch genügenden Unterdrückung der Begleitbakterien das Wachstum der Choleravibrionen nicht mehr in nennenswerter Weise schädigte. Wie nun schon bei den Arbeiten mit Reinkulturen festgestellt worden ist, beeinträchtigt ein Sodazusatz von nur 3—4 ccm Agar das Cholerawachstum nicht mehr, und es konnte weiter nachgewiesen werden, daß dieser Alkalescenzgrad ausreicht, die Begleitbakterien in einem den praktischen Anforderungen genügenden Maße zurückzuhalten. Denn wenn derartig alkalisierter Agar, der sowohl nach der Aronsonschen wie nach der Seiffert-Bambergerschen Vorschrift hergestellt war, mit cholerafreiem Stuhl beimpft wurde, so wuchsen aus einer Öse noch 200—300 Kolonien, während die mit der gleichen Menge beschickten gewöhnlichen Agarplatten von einem dicken Kulturrasen überwuchert waren.

Die überwiegende Mehrzahl der aus gewöhnlichem Stuhle auf den Fuchsinnährböden gewachsenen Kolonien war nun farblos oder schwach rosa gefärbt, aber einzelne tiefrote zeigten sich doch auf allen Platten. Auffallend war dabei die Tatsache, daß in den Stühlen, die von kranken Personen stammten, solche rot wachsenden Nicht-cholera-Kolonien erheblich häufiger nachweisbar waren, als in normalen Stühlen, eine Beobachtung, die mit den bereits von Aronson und von Stern erhobenen Befunden in Einklang zu bringen ist. Bei einer eingehenden kulturellen Prüfung derartiger Kolonien ergab sich denn auch, daß es sich meist um Kolibacillen handelte und daß diese sich recht häufig durch ein ganz auffallendes Dunkelrot mit sehr starkem, metallischen Fuchsinglanz auszeichneten. Aber auch grampositive Kokken und gramnegative Diplokokken wurden wiederholt als intensiv rot wachsend befunden. Die

mit der gleichen Menge desselben Stuhles beimpften Blutalkaliplatten nach Dieudonné und Baerthlein-Gildemeister blieben ebenfalls nicht steril, immerhin zeigten sie aber weniger Kolonien als die mit nur 3 und 4 ccm Sodalösung alkalisierten Fuchsinnährböden. Ein grundsätzlicher und praktisch nicht belangloser Unterschied in der Flora ließ sich aber insofern feststellen, als auf den Blutalkalinährböden Kolikolonien nie zu ermitteln waren, sondern daß die gelblichweißen Kulturen, die eine Verwechslung mit Cholera völlig ausschließen lassen, durch gramnegative Diplokokken gebildet wurden.

Wieweit nun diese nicht nur nicht unterdrückten, sondern auf den Fuchsinnährböden sogar unter dem für Cholera als charakteristisch geltenden Bilde wachsenden Keime die Diagnosestellung beeinträchtigen können, wird bei Erörterung der wichtigen Versuchsreihen besprochen werden, die mit künstlich bereiteten Cholerastühlen angestellt wurden und die namentlich Aufschluß darüber geben sollten, bis zu welcher untersten Grenze man die dem Stuhle beigemischten Cholerabacillen noch nachweisen kann.

Es wurden für diese Versuche wiederum normale und von Typhuskranken stammende Stühle verwandt, die mit einem auf den Fuchsinnährböden gut und charakteristisch wachsenden Cholerastamm in der Weise versetzt wurden, daß je 1 ccm Stuhl, in 3 ccm Kochsalzlösung verrieben, fallende Mengen ($^1/_{1000}$ bis $^1/_{100000}$ Öse Agarkultur) einer Vibrionenaufschwemmung erhielt. Die von diesem Gemisch auf die Platten überimpfte Menge betrug, wie durch Auszählen und Berechnung festgestellt wurde, 0,0016 ccm Stuhl mit $^1/_{760000}$ bis $^1/_{76000000}$ Öse Cholerakultur. Für die vergleichende Prüfung wurden herangezogen der Aronsonsche und Seiffert-Bambergersche Nährboden in ihrer von den Verfassern angegebenen Form sowie mit vermindertem Sodazusatz (4, 3 und 2 ccm auf 100 ccm Agar), der Baerthlein-Gildemeistersche und Dieudonnésche Blutalkaliagar.

Die zahlreichen, in dieser Richtung unternommenen Versuche haben zunächst übereinstimmend die schon mehrfach erwähnte Tatsache wiederum bestätigt, daß bei dem von Aronson und Seiffert und Bamberger vorgeschriebenen Alkaleszenzgrad jedes Wachstum, sowohl das der Cholerabacillen als auch das der Begleitbakterien unterbleibt. Wurde aber der Aronsonsche Nährboden mit nur 4 ccm Sodalösung versetzt, so ergab sich ein reichliches und charakteristisches Wachstum der Cholerakolonien und diese konnten bei einiger Übung mit Sicherheit auf den ersten Blick von den in mäßiger Zahl vorhandenen Begleitbakterien unterschieden werden. Bei einem Zusatz von nur 3 ccm zeigte sich, wie zu erwarten, ein reichlicheres Wachstum der Stuhlkeime, während die Cholerakolonien selbst häufig nicht mehr das üppige Wachstum mit der charakteristischen Kokardenbildung, dem erhabenen Zentrum und den wulstig aufgetriebenen Rändern erkennen ließen. Diese Beobachtungen beweisen, daß ein gewisser Alkaleszenzgrad nicht nur für die Unterdrückung der Begleitbakterien, sondern auch für ein kräftiges Cholerawachstum erforderlich ist und daß die für ihn als Optimum geltende Schwelle bei 3 ccm Soda jedenfalls schon unterschritten ist. Betrug aber der Sodazusatz nur 2 ccm, so ergeben sich neben sehr zahlreichen Stuhlbakterien vielfach überwucherte

und schlecht ausgebildete Cholerakolonien. Diese Verhältnisse werden am besten durch das zahlenmäßig dargestellte Durchschnittsergebnis der Versuchsreihen veranschaulicht: Die Zahl der Cholerakolonien im Vergleich zu den Begleitbakterien in Prozenten berechnet betrug bei 4 ccm Soda 136%, bei 3 ccm Soda 44% und bei 2 ccm 25%.

Ganz ähnliche Beobachtungen haben sich bei Verwendung des Seiffert-Bambergerschen Nährbodens ergeben, nur daß bei diesem, da er ja von vornherein stärker alkalisch ist, das Alkaleszenzoptimum zwischen 2 und 3 ccm Soda zu suchen ist. Erst bei dieser Verringerung gegenüber der von den Verfassern empfohlenen Menge ergab sich bei noch genügender Hemmung der Begleitkeime ein ungeschwächtes und charakteristisches Cholerawachstum, das freilich im Durchschnitt nur 80% der Gesamtflora ausmachte.

Günstiger als Seiffert-Bamberger und auch als Aronson in der geeignetsten Alkaleszenzstufe erwies sich der Dieudonnésche Agar, auf dem von allen überhaupt gewachsenen Kolonien 145% sich als Cholera herausstellten; bei weitem die besten Ergebnisse lieferte jedoch auch bei diesen zahlenmäßigen Vergleichen der Blutsodaagar von Baerthlein-Gildemeister, dessen Kolonien zu 226% aus Cholorabacillen hervorgegangen waren.

Wie schon oben kurz erwähnt, bin ich bei diesen Versuchen im Cholerazusatz bis auf sehr niedrige Werte heruntergegangen. Denn wenn man eine Öse Agarkultur auf 100—200 Millionen Vibrionen veranschlagt, so können die geringsten, im verarbeiteten Stuhle enthaltenen Mengen von $^1/_{76\,000\,000}$ Öse rechnerisch nur noch etwa 2 Keime enthalten haben. Naturgemäß bringen derartige Verdünnungen infolge der Schwierigkeit, beim Verreiben und Mischen eine völlig gleichmäßige Verteilung des Bakterienmaterials zu erreichen, recht weite Fehlerquellen mit sich; diese sind, wie ich früher gelegentlich festgestellt habe, auf mindestens 30% anzusetzen. Es darf daher nicht wundernehmen, wenn bei diesen letzten Verdünnungsstufen hin und wieder Versager eintreten, ebenso wie es andererseits aus den gleichen Gründen möglich ist und auch wiederholt beobachtet wurde, daß die auf den Platten wiedergefundene Keimzahl im Vergleich zur Aussaatmenge unwahrscheinlich hoch war. Es müssen sonach für eine Beurteilung der Ergebnisse zum Ausgleich dieser Fehlerquellen größere Versuchsreihen zugrunde gelegt werden.

In voller Würdigung dieser für die Bewertung der Methodik gebotenen Vorsicht konnte ich feststellen, daß es mit dem Baerthlein-Gildemeisterschen und dem Dieudonnéschen Blutalkaliagar, ebenso aber auch mit dem Aronsonschen und Seiffert-Bambergerschen Fuchsinnährboden, sofern letztere auf einen geeigneten Alkaleszenzgrad eingestellt waren, in den meisten Versuchen gelingt, noch bei Aussaat der verschwindend geringen Menge von $^1/_{76\,000\,000}$ Öse Cholerakultur die Vibrionen nachzuweisen. Da nun das verriebene Choleramaterial einem in zwei Teilen Kochsalzlösung aufgeschwemmten Stuhle beigemischt war, somit in einer Öse des Gemisches $^1/_3$ Öse Stuhl verarbeitet wurde, gelang also der Nachweis spärlichster Cholerabacillen in der 25millionenfachen Menge eines z. T. sehr keimreichen Stuhles, ein Ergebnis, welches sicherlich beweist, daß die geprüften

Methoden der elektiven Züchtung weitestgehenden Anforderungen gerecht werden!

Wie weit wird nun die makroskopische Beurteilung der auf Fuchsinnährböden vorhandenen Cholerakolonien durch das Vorkommen anderer rot wachsender Keime gestört? Ich habe schon oben betont, daß es bei einiger Übung nicht schwer ist, die Cholerakolonien, sofern sie eben charakteristisch wachsen, an ihrer hochroten Farbe und der Kokardenform ohne weiteres als solche zu erkennen, sowohl auf dem Aronsonschen wie auch auf dem Seiffert-Bambergerschen Nährboden. Um aber ein charakteristisches Wachstum zu erreichen, empfiehlt es sich, an der oberen Grenze der Alkalitoleranz zu bleiben, da bei einer zu starken Herabminderung des Sodazusatzes einmal die beschriebenen Merkmale der Cholerakolonien verwischt werden und zweitens unter den dann naturgemäß zahlreicher wachsenden Begleitbakterien ohnehin die Zahl der rot wachsenden sich vergrößert. Daß die Nachteile der in ihren Lebensäußerungen geschwächten älteren Laboratoriumsstämme einer Unterscheidung von anderen verdächtigen Kolonien weitere Schwierigkeiten bereiten, geht aus dem früher Gesagten bereits hervor und ist auch von Aronson selbst schon zum Ausdruck gebracht worden. Aber das sind eben Tatsachen, die wohl den theoretischen Laboratoriumsversuch beeinträchtigen, für den praktischen Nachweis der Cholera aber weniger ins Gewicht fallen. Es muß jedenfalls festgestellt werden, daß unter günstigen Vorbedingungen die auf Aronson und Seiffert-Bamberger gewachsenen Cholerakolonien hinsichtlich ihrer Erkennung dem mit den Nährböden Vertrauten keine erheblichen Schwierigkeiten bereiten.

Stellen wir nun diesen Beobachtungen die Befunde gegenüber, die mit dem Dieudonné-Agar und dem Baerthlein-Gildemeisterschen Nährboden erzielt worden sind, so muß zugegeben werden, daß, trotzdem die wertvolle Beihilfe einer Farbreaktion nicht zur Unterstützung der Diagnose herangezogen werden kann, sich dennoch die Cholerakolonien durch ihre rauchgraue Farbe, ihre glasige Beschaffenheit, den starken Glanz im seitlich auffallenden Lichte und ihre erhebliche Größe im Vergleich zu anderen Kolonien so sehr aus dem Bilde der Begleitbakterien hervorheben, daß ihre Erkennung fast noch schneller und sicherer möglich ist als auf den Fuchsinnährböden. Denn die für die Blutalkaliplatten als charakteristisch geltenden Merkmale sind mit einer meines Erachtens wohl völligen Beständigkeit an die Cholerakolonie gebunden, während die Rotfärbung auf dem Fuchsinagar eben nicht streng spezifisch ist. Vergleichen wir schließlich noch die auf Dieudonné und Baerthlein-Gildemeister gewachsenen Cholerakolonien miteinander, so muß auch in dieser Hinsicht eine Überlegenheit letztgenannten Nährbodens festgestellt werden, da er zweifellos dem Choleravibrio bessere Entwicklungsmöglichkeiten bietet: nicht nur die oben beschriebenen Eigentümlichkeiten der Cholerakolonie treten auf dem Baerthlein-Gildemeisterschen Agar stets mit größerer Schärfe hervor, sondern ihr Wachstum ist auch entschieden noch üppiger, so daß bei Anwesenheit zahlreicher anderer Kolonien vielfach beobachtet wurde, daß diese von den sich üppig ausdehnenden Cholerakolonien geradezu überwachsen waren.

Aus rein theoretischen Erwägungen ist es ja auch leicht erklärlich, daß mit den Blutalkalinährböden bessere Ergebnisse erzielt werden müssen als mit dem Fuchsinagar. Dieser sichert dem Cholerabacillus ein besseres Wachstum in erster Linie dadurch, daß sein hoher Alkaligehalt die störenden Begleitkeime schädigt. Die gleiche Eigenschaft besitzen aber auch die Blutalkalinährböden, sie haben jedoch insofern zweifellos einen sehr wertvollen Vorsprung, als sie durch ihren Hämoglobingehalt reichlichere und gerade dem Choleravibrio sehr zusagende Nährstoffe und somit das Cholerawachstum fördernde Bestandteile besitzen. Daß aber auch das Chlorophyll, wie Seiffert und Bamberger meinen, als ein Ersatz des Hämoglobins anzusehen wäre und daß durch diesen Zusatz das Wachstum der Cholera begünstigt würde, kann ich dagegen auf Grund meiner Befunde nicht annehmen, ebensowenig wie Baumgarten und Langer-Zuckerkandl bei ihren sehr sorgfältigen Untersuchungen sich zu einer dahingehenden Ansicht bekannt haben.

Geht also aus den vorstehend behandelten Versuchsreihen hervor, daß die von Aronson und Seiffert und Bamberger angegebenen Fuchsinnährböden die günstigen Ergebnisse des Dieudonnéschen und Baerthlein-Gildemeisterschen Blutalkaliagars bei weitem nicht erreichen, so haben sie andererseits doch bewiesen, daß eine auf das für zweckmäßig befundene Maß eingestellte Alkaleszenz die Leistungsfähigkeit sehr erheblich verbessert.

Unter Anlehnung an das Aronsonsche Verfahren habe ich nun eine Reihe anderer Farbstoffe durch Behandlung mit Natriumsulfit in ihre Leukobasen überzuführen und mit Hilfe der rohrzuckerspaltenden Fähigkeit der Choleravibrionen ebenfalls eine Farbreaktion zu erreichen versucht. Maßgebend war mir hierbei der Gedanke, daß vielleicht der eine oder andere Farbstoff, ohne das Cholerawachstum zu schädigen, an sich einen stärker hemmenden Einfluß auf die gewöhnlichen Darmbakterien ausüben und somit die Möglichkeit bieten könnte, mit einem weniger hohen Alkalizusatze eine genügende Elektivität für Cholera zu erzielen. Gelang es, nach dieser Richtung einen gangbaren Weg zu finden, so durfte auf ihm eine Beseitigung des Hauptnachteiles der Fuchsinnährböden, nämlich ihrer cholerahemmenden Eigenschaften, erhofft werden. Während nun in einer Reihe von Vorversuchen sich manche Farbstoffe überhaupt nicht, andere nur schwer durch Natriumsulfit entfärben ließen, konnte ich beim Malachitgrün, dem Methylgrün und dem Mirolblau schon bei Zusatz geringer Mengen eine Reduktion zur Leukobase herbeiführen. Ich habe daher diese drei Farbstoffe für meine weiteren Arbeiten ausgewählt.

Für das Malachitgrün erschienen mir die geforderten Eigenschaften der Unterdrückung der Begleitkeime von vornherein gegeben zu sein, denn es war anzunehmen, daß die von Lentz-Tietz beobachtete Keimhemmung, die sie bei ihrem für die Typhusdiagnose so vorteilhaften Malachitgrünagar verwerteten, sich auch für einen entsprechend dem Aronsonagar hergestellten Nährboden nutzbar machen ließ. Voraussetzung mußte natürlich sein, daß das Wachstum der Cholera durch den Farbstoff nicht geschädigt wurde. Bezüglich des Methylgrüns und des Mirolblau standen mir

in bezug auf etwaige Einflüsse auf das Bakterienwachstum keine Erfahrungen zur Verfügung.

Einige Vorversuche ergaben nun, daß die beiden letztgenannten Farbstoffe, ebenso wie übrigens das Fuchsin, selbst in Mengen, die den von Aronson vorgeschriebenen Fuchsinzusatz (0,4 ccm konz. alkoh. Lösung auf 100 Agar) bis um das Achtfache übertrafen, auf die Begleitbakterien keinen sichtbar hemmenden Einfluß ausübten, daß demnach von diesen Farbstoffen keine spezifische Hemmung der Begleitkeime und somit auch keine relative Förderung der Choleravibrionen zu erwarten war. Anders lagen aber die Verhältnisse bei den mit Malachitgrün versetzten Platten, die bereits in den mit 0,4 ccm zu 100 Agar bereiteten Mischungen eine sehr ausgesprochene Hemmung der Begleitkeime bei ungehindertem Cholerawachstum ergaben und bei der doppelten Farbstoffmenge überhaupt keine Kolonien mehr aufkommen ließen. Es zeigte sich ferner die interessante Beobachtung, daß — im Gegensatz zum Methylgrün, Mirolblau und Fuchsin — ein sehr erheblicher Unterschied besteht zwischen der Verwendung des unveränderten Farbstoffs und seiner Leukobase. Während nämlich das nicht entfärbte Malachitgrün bereits bei einem Zusatz von 0,4 ccm jedes Bakterienwachstum unterdrückt, tritt diese völlige Hemmung bei der Leukobase erst nach Verwendung der doppelten Menge ein.

Wenn sonach nur das Malachitgrün die Aussicht eröffnete, infolge eigener Hemmung auf die Begleitbakterien ein elektives Cholerawachstum auch bei geringerem Sodazusatz zu gewährleisten, so habe ich dennoch auch das Methylgrün und das Mirolblau für die weiteren Prüfungen mit herangezogen.

1. Versuche mit Malachitgrün. Der Agar wurde nach den gleichen Vorschriften hergestellt, wie sie Aronson für seinen Nährboden angibt, nur wurde statt der alkoholischen Fuchsinlösung auf 100 ccm Agar zunächst 1 ccm einer wässerigen Malachitgrünlösung (Chlorzinkdoppelsalz, kristall., chem.-rein) 1 : 60, also entsprechend der für den Lentz-Tietzschen Malachitgrünagar benutzten Beigabe, zugesetzt. Die Entfärbung mit Natriumsulfit erfolgte sehr leicht unter annähernd den gleichen Mengenverhältnissen, wie sie beim Fuchsin erforderlich sind. Die Alkalisierung wurde mit 2, 4 und 6 ccm einer 10 $^0/_0$igen Lösung von wasserfreier Soda (auf 100 ccm Agar) vorgenommen, außerdem aber auch ein Nährboden ohne jeden Sodazusatz hergestellt. Dieser Malachitgrünagar ist völlig durchsichtig und nach dem Erstarren in der dünnen Schicht einer Platte auch fast farblos; nur bei den höheren Alkaleszenzstufen nimmt er einen leichten Stich ins Bräunliche an.

Es wurde zunächst mit dicker Aussaat von Reinkulturen (Strichimpfung) gearbeitet, um festzustellen, wie sich die Cholera und die wichtigsten Vertreter der Kolityphusgruppe zu dem Nährboden verhielten. Diese Versuche lieferten nach 24-stündiger Bebrütung das folgende Ergebnis:

1. Ohne Sodazusatz. Cholera: spärliches Wachstum, leuchtend grün. Koli: mäßig gut, gelb. Paratyphus B: spärlich, gelb. Typhus: spärlich gelb.
2. Mit 2 ccm Soda. Cholera: üppig, grün. Koli: üppig, gelb. Paratyphus B: üppig, gelb. Typhus: mäßig gut, gelb.

3. Mit 4 ccm Soda. Cholera. üppig, grün. Koli: fast 0. Paratyphus B: spärlich, gelb. Typhus: fast 0, gelb.

4. Mit 6 ccm Soda. Cholera: üppig, grün. Koli: 0. Paratyphus B: sehr spärlich, gelb. Typhus: fast 0, gelb.

Es war also in allen Fällen nur die Cholera, diese aber auch stets, grün gewachsen und sie hatte bei dieser massiven Aussaat ein üppiges Wachstum gezeigt bis in die höchsten Alkaleszenzgrade. Die übrigen Keime waren bei 2 ccm Sodazusatz noch mäßig bis gut gewachsen, zeigten aber von 4 ccm ab eine sehr starke oder völlige Hemmung. Daß bei diesem Alkaligehalt überhaupt noch ein Wachstum der anderen Stämme erkennbar war, ist, wie sich später einwandfrei herausgestellt hat, nur auf die sehr reichliche Aussaat zurückzuführen.

Diese Ergebnisse ließen einen weiteren Verfolg der Versuche als berechtigt erscheinen. Von der Verwendung des Nährbodens ohne jeden Sodazusatz glaubte ich dabei absehen zu können, da, wie sich schon früher ergeben hatte und auch in der Folge sich wieder herausstellte, ein typisches und kräftiges Cholerawachstum erst von einem gewissen Alkaleszenzgrade ab eintritt. Ebenso hielt ich es in Anbetracht der früher beobachteten ausgesprochenen Hemmung des Cholerawachstums nicht für zweckmäßig, mehr als 4 ccm Sodalösung auf 100 ccm Agar zuzusetzen, so daß also die weiteren Untersuchungen entsprechend den früheren mit 2, 3 und 4 ccm Sodalösung ausgeführt wurden.

Bei der Verarbeitung normaler und pathologischer Stühle bestätigte es sich nun, daß die gewöhnlichen Darmkeime bereits bei 2 ccm Sodazusatz in recht erheblichem Maße zurückgehalten, bei 3, namentlich aber bei 4 ccm nahezu völlig ausgeschaltet wurden. Das Aussehen der Kolonien, die überhaupt zur Entwicklung kamen, war meist farblos oder leicht gelblich; grün wachsende wurden nur in ganz vereinzelten Fällen und, im Gegensatz zu dem Aronsonschen Nährboden, auch fast nur auf den mit 2 ccm Sodalösung versetzten Agarplatten beobachtet. Immerhin muß festgestellt werden, daß einige auf Aronson besonders hochrot wachsende Kolistämme auch auf dem Malachitgrünagar eine Grünfärbung hervorriefen.

Die choleraähnlichen Vibrionen, die auch auf Aronson nicht die starke Färbung und Üppigkeit der Cholerakultur erreichten, blieben in dieser Hinsicht ebenfalls auf dem Malachitgrünagar deutlich hinter den echten Cholerastämmen zurück.

Diese, das Wachstum der Begleitbakterien hemmenden Eigenschaften traten aber ganz besonders in Erscheinung, wenn den Stühlen Cholerabacillen beigemischt wurden. Namentlich auf den mit 3 und 4 ccm Soda zubereiteten Platten wuchsen diese in einer sehr üppigen und charakteristischen Weise (die schon beschriebene Kokardenform) und zeigten eine saftig grüne Farbe. Die Mengenverhältnisse zwischen ausgesätem Stuhle und beigegebener Cholerakultur wurden dabei in der gleichen Weise eingehalten wie bei den früheren Versuchen, und es zeigte sich, daß die Malachitgrünplatten quantitativ dieselbe Leistungsfähigkeit besaßen wie der Aronsonsche Nährboden, daß aber bereits bei einem geringeren Sodazusatze die Zahl der Begleitkeime erheblich niedriger wurde und nament-

lich die Menge der verdächtigen, in diesem Falle also grün wachsenden Nichtcholera-Kolonien, dem Aronson gegenüber eine beträchtliche Abnahme aufwies.

Ich habe dann weiterhin statt der wässerigen Malachitgrünlösung zahlreiche Versuche mit einer konzentrierten alkoholischen Lösung des Farbstoffs (0,4 ccm auf 100 ccm Agar) angestellt und glaube, daß diese insofern günstiger ausgefallen sind, als sie gleichmäßiger waren. Ich möchte daher dieser letzten Anwendungsform den Vorzug geben.

Ein Nachteil des Malachitgrünnährbodens besteht indes darin, daß die Farbreaktion vielfach ihren Höhepunkt später erreicht, als dies bei dem Fuchsinagar der Fall ist: eine intensiv grüne Färbung der Cholerakolonien tritt gelegentlich erst nach 24—28 Stunden ein. Mit dieser Erscheinung dürfte indes wieder jene vorteilhafte Eigenschaft in Verbindung stehen, daß die Anzahl der verdächtig erscheinenden Kolonien, also der unter Farbstoffbildung wachsenden Nicht-Cholera, auf dem Malachitgrünagar sehr viel geringer ist als auf den Fuchsinnährböden. Da nun aber das Wachstum der Cholerakolonien so außerordentlich charakteristisch ist und gleichzeitig die Darmbakterien in so hohem Maße, jedenfalls ganz erheblich mehr als dies bei Aronson mit einem die Vibrionen noch nicht schädigenden Alkaleszenzgrade der Fall ist, zurückgehalten werden, kann man die Cholera auch ohne vollentwickelte Farbreaktion sofort als solche erkennen, eine Tatsache, die den Nachteil etwa verspäteter Farbstoffbildung für die Diagnose fast bedeutungslos macht.

Die Agglutinierbarkeit der Kolonien und die Beweglichkeit der auf Malachitgrünagar gewachsenen Vibrionen war ebenfalls etwas beeinträchtigt, wie ich aber erwähnte, habe ich auch bei den auf Fuchsinnährböden gezüchteten Stämmen nicht die hohen Werte wiederfinden können, die mit Agarkulturen erreicht wurden. Hinsichtlich der morphologischen und färberischen Verhältnisse konnten zwischen den Malachitgrün- und Fuchsinkulturen keine Abweichungen festgestellt werden.

2. Versuche mit Methylgrün. Wie bereits durch Vorversuche ermittelt, kommt dem Methylgrün die so wertvolle Eigenschaft einer Hemmung der Begleitbakterien nicht zu, so daß von vornherein dieser Farbstoff nicht die günstigen, beim Malachitgrün beobachteten Ergebnisse erwarten ließ. Die weiteren, im gleichen Rahmen wie die mit Malachitgrün ausgeführten Versuche haben denn auch diese Vermutung bestätigt.

Wenn auch die mit Reinkulturen von Cholera beimpften Platten eine schöne und überzeugende Farbreaktion lieferten, wenn ferner die Unterschiede gegen choleraähnliche Vibrionen im Sinne einer geringeren Intensität der Farbstoffbildung unverkennbar waren, so zeigte sich doch bei Verwendung von künstlichen Cholerastühlen, daß die ohne hohe Alkalisierung nicht befriedigende Hemmung der Begleitbakterien und das häufigere Auftreten grün gefärbter Kolonien, die nicht aus Cholerabacillen gebildet waren, eine praktische Verwendbarkeit des Nährbodens in der vorliegenden Form nicht befürworten läßt. Immerhin muß festgestellt werden, daß die Reaktionsfähigkeit des Farbstoffs an sich gut ist und daß er in seiner Leukobase für andere Nährböden in ähnlichem Sinne vielleicht doch erfolgreich zu verwerten ist. Ein Umstand kann dabei vielleicht störend ins Gewicht fallen: die Leukobase scheint

chemisch ziemlich labil zu sein und leichter als das Malachitgrün zum Farbstoff oxydiert zu werden. Denn vielfach war die Umgebung grün gefärbter Kolonien in beträchtlichem Maße an der Verfärbung beteiligt, wodurch die Deutlichkeit des Bildes zweifellos beeinträchtigt wurde.

3. Versuche mit Mirolblau. Die Nährböden, die mit diesem Farbstoff nach den gleichen Vorschriften wie der Malachitgrünagar hergestellt und in der gleichen Weise mit Reinkulturen und künstlichen Cholerastühlen geprüft wurden, lieferten an sich Bilder von wunderbarer Farbenpracht. Namentlich bei den Platten, die mit Reinkulturen angelegt waren, zeigte sich die Cholera in ihrem tiefblauen Farbton, der auch durch die choleraähnlichen Vibrionen nicht in dem gleichen Maße hervorgerufen wurde, in einem zunächst als sehr aussichtsreich erscheinenden Gegensatze zu dem farblosen oder gelblichen Wachstum anderer Bakterien, insbesondere denen der Colityphusgruppe.

Aber die bereits beim Methylgrün geschilderten Nachteile traten bei Verwendung künstlicher Cholerastühle in verstärktem Maße in Erscheinung: zunächst wird durch den Farbstoff selbst das Wachstum der Begleitbakterien in keiner erkennbaren Weise beeinträchtigt und die Zahl der blau gefärbten Nicht-Cholerakolonien ist sehr beträchtlich. Sodann ist die Labilität der Leukobase noch bedeutend größer als beim Methylgrün, da sie nicht nur auf das durch die Zuckerspaltung freiwerdende und die Oxydation verursachende Formaldehyd reagiert, sondern bereits durch geringe Schwankungen der Säure- und Alkaliwerte beeinflußt wird. Das geht schon daraus hervor, daß die mit Mirolblau hergestellten Nährböden bei Zusatz von 3 und 4 ccm Sodalösung bereits völlig ihre Blaufärbung verlieren, so daß eine Beigabe von Natriumsulfit überhaupt nicht mehr notwendig ist. Jede hinreichend säurebildende Kolonie wird daher auch ohne Zuckerspaltung eine Bläuung des Nährbodens verursachen, die anderen werden farblos wachsen.

Diese leichte Beeinflußbarkeit bedingt naturgemäß eine große Neigung zu weitgehender Diffusion des blauen Farbstoffs, die, von einigen wenigen Kolonien ausgehend, leicht die ganze Platte ergreift. Läßt man derartige Kulturschalen, die neben farblosen Kolonien intensiv blaue, vielleicht außerdem eine starke Diffusion mit Farbstoff zeigen, einen weiteren Tag im Brutschrank stehen, so kann man beobachten, daß bei Anwesenheit von Alkalibildnern nicht nur der diffundierte Farbstoff völlig schwindet, sondern daß auch die tags zuvor tiefblau gefärbten Kolonien restlos abgeblaßt sind. Das Mirolblau ist demnach in der von mir benutzten Zusammenstellung für den Choleranachweis nicht geeignet.

Im Verfolg der mit den genannten Farbstoffen ausgeführten Versuche, insbesondere mit Rücksicht auf die übrigens bei allen dreien im Vergleich zu den Fuchsinnährböden zu beobachtende Verzögerung der Farbreaktion habe ich weiterhin geprüft, ob durch Herabsetzung oder Erhöhung der Farbstoffmenge oder durch vermehrten Gehalt an dem die Oxydation auslösenden Rohrzucker — die in dieser Hinsicht mangelnde Spezifität des Mirolblau und auch des Methylgrün bleibe hier unberücksichtigt — eine Beschleunigung herbeigeführt wurde. Ich kann die diesbezüglichen Ergebnisse dahin zusammenfassen, daß die von Aronson empfohlene Menge von 0,4 ccm gesättigter

alkoholischer Farblösung zu 100 ccm Agar auch bei den von mir geprüften Stoffen am geeignetsten ist und daß ein erhöhter Zuckerzusatz in keinem Falle eine Beschleunigung oder Verstärkung der Farbreaktion hervorrief, wohl aber durch Begünstigung des Wachstums der Begleitkeime nachteilig wirkte.

Auf welchen Alkaleszenzgrad soll man nun derartige hämoglobinfreie Choleranährböden, insonderheit den Aronsonagar und den als ebenfalls recht brauchbar befundenen Malachitgrünagar einstellen?

Es erscheint mir nicht ratsam, mich in dieser Hinsicht auf bestimmte Zahlenwerte festzulegen, da m. E. diese Entscheidung nur auf Grund der Ergebnisse, die in größerer Zahl und mit befriedigender Übereinstimmung an echten Cholerastühlen erzielt wurden, getroffen werden kann. Mit Sicherheit möchte ich aus meinen Beobachtungen nur den Schluß ziehen, daß für ein günstiges und charakteristisches Cholerawachstum und eine genügende Hemmung der Begleitbakterien als untere Grenze die Verwendung von 3 ccm Sodalösung (auf 100 ccm Agar) anzusehen ist, daß bei Zusatz von 4 ccm die von mir geprüften Laboratoriumsstämme noch keine Schädigung ihres Wachstums erkennen ließen, wohl aber eine praktisch ausreichende Elektivität erreicht wurde. Wenn diese durch Verwendung noch größerer Mengen zweifellos erhöht wird, so bringt die Steigerung der Alkaleszenz doch anderseits die Gefahr der Schädigung des Cholerawachstums mit sich. Sollten auch umfangreichere Erfahrungen mit echten Cholerastühlen, als sie bisher vorliegen, erhärten, daß die von mir geäußerten Bedenken zu weit gehen, so scheint dennoch der hohe Gehalt von 6 ccm Soda zum wenigsten nicht erforderlich zu sein.

Entsprechend dem Vorgehen von Stern und von Baumgarten und Langer-Zuckerkandl habe ich auch eine Reihe von Versuchen unternommen, die den Aronsonschen Gedanken mit der Peptonwasseranreicherung vereinigten. Es leuchtet ohne weiteres ein, daß die für eine Beschleunigung der Diagnose so vorteilhafte Peptonwassermethode, durch Verbindung mit der von Aronson eingeführten Farbreaktion ergänzt, eine Sicherung und Verbesserung erfahren könnte. Ich habe bei diesen Untersuchungen sowohl mit Fuchsinzusatz als auch mit den von mir geprüften Farbstoffen gearbeitet und zwar in Mengenverhältnissen, die, wie auch Baumgarten und Langer-Zuckerkandl es getan haben, in allen Einzelheiten den von Aronson für seinen Agar verwandten Zutaten entsprachen. Weiterhin habe ich aber diese Versuche auch auf eine Prüfung der verschiedenen von mir angewandten Alkaleszenzstufen ausgedehnt. Stern ist hinsichtlich der Zusammensetzung seines Fuchsinpeptonwassers nicht unwesentlich von der Aronsonschen Vorschrift abgewichen; insonderheit hat er die doppelten Mengen von Pepsin und Rohrzucker zugegeben, ein Vorgehen, welches mir auf Grund meiner Erfahrungen nicht zweckmäßig zu sein scheint.

Was nun die Ergebnisse anbelangt, so kann ich für das Fuchsinpeptonwasser die Angaben Sterns bestätigen, daß nämlich bereits nach 8 Stunden eine Rötung

der mit Cholera beimpften Kölbchen eintritt; ich muß aber auch Baumgarten und seiner Mitarbeiterin beipflichten, wenn sie behaupten, daß ebenfalls das mit cholerafreiem Stuhl beimpfte Peptonwasser, namentlich bei reichlicherer Aussaat, bald in den roten Farbton umschlägt. Auch von der durch die letztgenannten Autoren vorgeschlagenen Maßnahme, zur Vermeidung dieses, die praktische Verwendung ausschließenden Umstandes, den Stuhl vor Verimpfung mit Kochsalzlösung zu verreiben, habe ich keinen ersichtlichen Nutzen beobachtet.

Die gleichen Ergebnisse lieferten mir die mit Malachitgrün, Methylgrün und Mirolblau vorgenommenen Versuche, bei denen die schon für die Agarnährböden beobachtete Verzögerung der Reaktion wieder zum Ausdruck kam: sie lieferten stets, und zwar im allgemeinen nach 10—12 Stunden, den charakteristischen Farbumschlag; es trat aber eben auch bei den Kölbchen, die nur Stuhl ohne Cholerazusatz erhalten hatten, die Oxydation der Leukobase bis zu einem Sodagehalt von 4 ccm zu 100 ccm Peptonwasser ein, während bei höherem Alkalizusatz auch die mit Cholera beschickten Röhrchen farblos blieben.

Ich glaube mich daher in Übereinstimmung mit Baumgarten und Langer-Zuckerkandl zu befinden, wenn ich eine Vereinigunng der Peptonwasseranreicherung mit dem Aronsonschen Verfahren ablehne. Die Ursachen, die für diese unbefriedigenden Ergebnisse maßgebend sind, liegen auf der Hand: alle die Bakterien, bei denen wir auf den festen Nährböden eine Oxydation des Farbstoffs beobachtet haben und die, wie nachgewiesen, in jedem Stuhl vorhanden sein können, werden diese ihre Eigenschaften natürlich auch im Peptonwasser geltend machen, besonders dann, wenn die so labilen Leukobasen des Methylgrün und des Mirolblau verwandt wurden.

Auf dem festen Agar ist nun aber die Cholera infolge anderer charakteristischer Merkmale von der gefärbten Nicht-Cholerakolonie für den Geübten verhältnismäßig leicht zu unterscheiden. Diese, eine Diagnose ermöglichenden Hilfsmittel fallen aber bei dem Peptonwasser fort, so daß aus dem allein ersichtlichen Farbumschlag, auch unter Berücksichtigung der zeitlichen Verhältnisse, keine Rückschlüsse zulässig sind.

Aber noch eine andere Beobachtung glaube ich gegen eine Verbindung der beiden Methoden geltend machen zu müssen: der beschleunigte Choleranachweis in den Peptonwasserkölbchen beruht in erster Linie auf dem Sauerstoffbedürfnis der Choleravibrionen, die vermöge ihrer lebhaften Beweglichkeit sehr bald die mit der Luft in Berührung stehenden und daher sauerstoffreichen oberflächlichsten Schichten der Nährflüssigkeit aufsuchen, hier infolge ihrer Massenansammlung das bekannte Häutchen bilden und in diesem leicht nachgewiesen werden können. Dieses charakteristische Häutchen entwickelt sich nun überhaupt nicht oder nur sehr verspätet und kümmerlich auf dem entsprechend dem Aronsonagar hergestellten Peptonwasser. Zur Feststellung der Ursache dieser Erscheinung habe ich dann eine Reihe von Versuchen ausgeführt, bei denen das Peptonwasser, schrittweise mit den einzelnen für den Aronsonagar verwandten Bestandteilen versetzt, geprüft wurde. So gelang es bald nachzuweisen, daß es der Rohrzuckergehalt ist, der für das Ausbleiben der Häutchenbildung verantwortlich zu machen ist. Diese Be-

obachtung dürfte wohl so zu erklären sein, daß die Vibrionen beim Abbau des Rohrzuckers so viel Sauerstoff in allen Schichten der Nährflüssigkeit vorfinden, daß sie diesen nicht in den obersten, mit der Luft in Berührung stehenden Teilen zu suchen brauchen. Somit kommt aber der Hauptvorteil des Peptonwasserverfahrens, nämlich die den schnellen Nachweis ermöglichende Anreicherung der Cholerabacillen an der Oberfläche, in Wegfall, eine Tatsache, die in Gemeinschaft mit der recht häufig nicht spezifischen und daher bei flüssigen Nährmedien fast wertlosen Farbreaktion sehr entschieden gegen eine Verwendbarkeit eines derartigen kombinierten Verfahrens sprechen dürfte.

Schlußfolgerungen.

1. Der Aronsonsche Nährboden ist leicht zu bereiten, namentlich mit Hilfe der fabrikmäßig hergestellten Tabletten. Er besitzt weiterhin den Vorzug sofortiger Verwendbarkeit. Der von Aronson vorgeschriebene Sodazusatz muß als zu hoch angesehen werden, da durch ihn nicht nur die Begleitbakterien, sondern unter Umständen auch nicht mehr voll lebensfähige Cholerastämme im Wachstum gehemmt werden. Die Farbreaktion ist nicht streng spezifisch für Cholera. Durch Verringerung des Sodazusatzes lassen sich bei noch ausreichender Unterdrückung der Begleitbakterien die Wachstumsbedingungen für Cholera erheblich verbessern. Unter dieser Voraussetzung kann der Nährboden wegen seines für die Choleradiagnose neu eingeführten Prinzips als Bereicherung der Nachweismethoden empfohlen werden. Die Kolonien sind infolge verschiedener typischer Merkmale für den Geübten ohne Schwierigkeit makroskopisch zu beurteilen. Die zweckmäßige Höhe des Sodazusatzes kann nur auf Grund größerer, mit echten Cholerastühlen ausgeführter Versuchsreihen festgesetzt werden.

2. Bei dem von Seiffert und Bamberger empfohlenen Fuchsinagar wurden im allgemeinen die gleichen Beobachtungen gemacht. Auch er muß in seiner Alkaleszenz bedeutend herabgesetzt werden. Dem Aronsonagar gegenüber bietet er hinsichtlich Elektivität oder Förderung des Cholerawachstums keine Vorteile. Ein auf den Chlorophyllzusatz zurückzuführender günstiger Einfluß hat sich nicht feststellen lassen.

3. Der Dieudonnésche Blutalkaliagar fördert das Cholerawachstum sehr viel mehr als die beiden vorgenannten Nährböden. Seine Elektivität läßt gelegentlich zu wünschen übrig.

4. Der von Baerthlein und Gildemeister empfohlene Blutsodaagar vereinigt die Vorteile sofortiger Verwendbarkeit, weitgehender Elektivität und ausgesprochener einseitiger Begünstigung des Cholerawachstums. Die Cholerakolonien sind an ihrem charakteristischen Aussehen sofort als solche erkennbar. Ihm gegenüber können die Fuchsinnährböden, auch wenn durch Einstellung auf das Alkaleszenzoptimum die cholerahemmenden Einflüsse aufgehoben sind, nicht als Verbesserung bezeichnet werden.

5. Der mit Malachitgrün entsprechend dem Aronsonagar hergestellte Nährboden besitzt jenem gegenüber den Vorteil, daß er infolge der Selbsthemmung des Farbstoffs bereits bei geringerem, die Cholera nicht schädigenden Sodazusatz eine sehr hohe Elektivität bedingt; seine Farbreaktion ist strenger spezifisch als die des Aronsonagars.

6. Die quantitative Leistungsfähigkeit der geprüften Nährböden hat sich bei künstlichen Cholerastühlen bis zu einer verschwindend geringen Aussaatmenge als etwa gleichwertig und den Anforderungen der Praxis als durchaus genügend erwiesen.

7. Eine Vereinigung des Aronsonschen Prinzips mit der Peptonwassermethode ist unzweckmäßig.

Literatur.

1. Dieudonné, Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 50, 1909, Heft 1.
2. Neufeld und Woithe, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1910, Bd. 33.
3. Esch, Deutsche medizinische Wochenschrift 1910.
4. Pilon, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 60, 1911.
5. Moldavan, „Das Österreichische Sanitätswesen", 1912, Nr. 8.
6. Lentz, Deutsche medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 15.
7. Haendel und Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1912, Bd. 40.
8. Baerthlein und Gildemeister, Münchener medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 21 und Zentralbl. f. Bakt., Abt. I, Orig. Bd. 76, 1915.
9. Kabeshima, ebenda Bd. 70, 1913, Heft 3 u. 4.
10. Köhlisch und Otto, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 80, 1915, S. 431.
11. Esch, Münchener medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 23.
12. Lange, Deutsche medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 38.
13. Ottolenghi, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I, Orig. Bd. 58.
14. Kraus, Zecki Zia und Zubrczik y, Wiener klinische Wochenschrift 1911, Nr. 30.
15. Aronson, Deutsche medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 35.
16. Derselbe, ebenda 1915, Nr. 37.
17. Schürmann und Fellmer, Deutsche medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 40.
18. Bötticher, Deutsche medizinische Wochenschrift 1915, Nr. 44.
19. Stern, Wien. klin. Wochenschrift 1915, Nr. 50.
20. Seiffert und Bamberger, Münchener medizinische Wochenschrift 1916, Nr. 15.
21. Baumgarten und Langer-Zuckerkandl, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 83, 1917, S. 389.

Untersuchungen über Vaccine.

Von

Dr. W. Böing,

wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

(Hierzu Tafel VII.)

Im Jahre 1917 kam es in Deutschland in den verschiedensten Orten zum Auftreten von Pockenerkrankungen. Die in neuester Zeit im Anschluß hieran erschienenen Pockenarbeiten haben uns eine Reihe wichtiger Erkenntnisse gebracht und zwar nicht nur in epidemiologischer Hinsicht, sondern auch bezüglich der Verbreitung des Virus im Organismus und hinsichtlich der histologischen Verhältnisse. Die von Paul ausgearbeitete Methode hat Anlaß gegeben, den Tierversuch in erweitertem Umfange auch für epidemiologische Untersuchungen heranzuziehen. Während von Prowazek noch seiner Ansicht dahin Ausdruck gibt, daß das Pockenvirus nach intravenöser Injektion nur 1 Stunde im zirkulierenden Blut nachweisbar ist, daß eine Vermehrung im Organismus mit Ausnahme auf der Hautdecke nicht stattfindet, haben Gins, Friedemann, Ungermann und Zülzer durch gelungene Überimpfungen den Pockenerreger sowohl in den Organen als auch im kreisenden Blut festgestellt und auf die Bedeutung der Tropfeninfektion für die Pockenübertragung hingewiesen. Bei dem Nachweis der Erreger im Blut und in den Organen handelt es sich aber immerhin nur um vereinzelte Fälle, was bei dem klinischen Krankheitsbild der Pocken als auffallend bezeichnet werden muß.

Dieses Mißverhältnis, das zwischen der Schwierigkeit des Nachweises des Pockenerregers im Organismus und dem klinischen Bild der Pockenerkrankung besteht, veranlaßte mich bereits im Jahre 1910, morphologische Studien an der mit Vaccine geimpften Kaninchencornea aufzunehmen, da ich der Ansicht war, auf diesem Wege vielleicht am ehesten Fortschritte zu erzielen. Diese Arbeiten, die mir bei der Pockenepitheliose des Kaninchenauges über den Bau der Guarnierischen Körperchen sowie bezüglich bestimmter Kernveränderungen bemerkenswerte Befunde ergeben hatten, waren bereits vor Kriegsausbruch zu einem gewissen Abschluß gelangt, ihre Zusammenfassung und Veröffentlichung jedoch durch den Krieg verhindert worden.

Inzwischen haben Ungermann und Zülzer über die Ergebnisse ihrer morphologischen Untersuchungen berichtet, die hauptsächlich unter Benutzung von Frischpräparaten zu einer Klarstellung der histologischen Vorgänge bei der Pockenepitheliose

an der Kaninchencornea geführt haben. Ebenso gelang es Hesse, an Frischpräparaten durch besondere Färbemethoden Bilder zu erzielen, die ebenfalls einen Einblick in den Bau der Guarnierischen Körperchen gestatteten und mit den von mir an Ausstrich- und Schnittpräparaten erhaltenen Ergebnissen gut übereinstimmen und sie bestätigen.

Über die Natur der Guarnierischen Körperchen herrscht auch heute noch keine völlige Übereinstimmung; jedoch mehren sich die Stimmen, die sie in Zusammenhang zu bringen suchen mit dem Erreger der Pocken. Wenn aber diese Anschauung richtig ist, und wenn anderseits die von Paschen gefundenen Körnchen in Beziehung zu bringen sind zu dem Erreger der Pocken, — eine Ansicht, der ich zuneige — so muß sich unbedingt eine Verbindung herstellen lassen zwischen den Guarnierischen Körperchen und den Paschenschen Körnchen, d. h. die Guarnierischen Körperchen müssen ein Entwicklungsstadium des Pockenerregers darstellen.

Das Pockenvirus geht durch die Filter, man vermag mit dem Filtrat positive Impfungen zu erzeugen. Auf Grund dieser Tatsache hat man das Pockenvirus zu den ultravisiblen Virusarten gerechnet. Da ich schon seit langem der Überzeugung bin, daß die Ultravisibilität in den meisten Fällen nicht zu Recht besteht, daß es uns bisher nur nicht gelingen wollte, die ultravisiblen Erreger sichtbar zu machen — bei einer Reihe von Erkrankungen hat sich diese Anschauung bereits als richtig erwiesen —, so suchte ich mir über die Natur der nicht sichtbaren Erreger und über den Grund für ihre Unsichtbarkeit Klarheit zu verschaffen.

Die Unsichtbarkeit kann bei einer 3000fachen Vergrößerung, die sich durch die photographische Platte ohne Mühe auf eine 6000fache erhöhen läßt, und bei der starken Auflösungsfähigkeit unserer Linsen wohl schwerlich gefunden werden in einem Versagen des uns zur Verfügung stehenden Linsensystems. Die Fehlerquelle muß vielmehr gesucht werden bei frischen Präparaten in dem zu schwachen Unterschied des Brechungskoeffizienten des zu suchenden Gegenstandes und seines Mediums, bei gefärbten Präparaten darin, daß der gesuchte Erreger bei der Färbung mit unseren gebräuchlichen Methoden die gleiche Tingierung annimmt wie seine Umgebung und sich dadurch von seiner Umgebung nicht genügend abhebt. Auch darf die Möglichkeit nicht außer Betracht gelassen werden, daß in vielen Fällen feinste Gebilde bei der Antrocknung zerfallen können und dadurch einfach verschwinden, oder daß sie durch unsere einwirkenden Reagentien zur Auflösung gebracht werden.

Von dem Gedanken ausgehend, daß unsere fixierenden und beizenden Lösungen die genuinen Eiweißkörper in ihrer Natur stark beeinflussen, so daß sie ihre normalen Reaktionen nicht mehr geben, daß selbst die Lösungsmittel der Farbstoffe hierbei eine große Einwirkung ausüben können, versuchte ich mir über die Natur der Guarnierischen Körperchen in anderer als in der bisher üblichen Weise Aufklärung zu verschaffen.

Man darf wohl mit Recht annehmen, daß in der Zelle schon unter normalen Bedingungen Chemorezeptoren vorhanden sind, die mit den normalen oder auch anormalen Stoffwechselprodukten der Zelle chemische Bindungen eingehen, so daß es möglich ist, daß ein und dieselbe Zelle im lebenden Zustande mehr oder weniger sauer reagiert oder auch die basische Komponente überwiegt. Nach dem Ableben

der Zelle werden in ihr durch Zersetzung des Eiweißes sich fortlaufend andere chemische Bindungen nachweisen lassen. Je nach dem Überwiegen der einen oder der anderen Komponente werden unsere Farbstoffgemische sich verschieden betätigen. Ferner kann es keinem Zweifel unterliegen, daß der endgültige chemische Zustand der Zelle abhängig ist von der Vorbehandlung der Organe oder des Ausstriches durch unsere Fixierungsflüssigkeiten, mit denen sie aus Gründen der mikroskopischen Technik behandelt werden. Es ist naturgemäß, daß diese Behandlung nicht ohne Einfluß bleibt auf die Eiweißarten der Zelle, die ihrerseits in verschiedenster Weise beeinflußt werden können, je nach ihrer Reaktion im lebenden Zustand.

Wer sich mit der Färbung der Trypanosomen oder der Chlamydozoen beschäftigt hat, wird diese Unterschiede in der Färbbarkeit gesehen und oftmals zu Unrecht dem Farbstoff die Schuld beigemessen haben. Bei den Chlamydozoen des Trachoms, der Blennorrhöe und der Schweinepest ist es auffallend, daß die Körnchen, die in derselben Kapsel liegen, bei gleicher Größe zum Teil rot, zum Teil blau gefärbt sind. Eine Erklärung hierfür hat man darin zu finden geglaubt, daß den Körnchen mehr oder weniger Plastin anhafte, wodurch die blaue Färbung bedingt würde. Behandelt man aber einen Conjunctivalausstrich der Schweinepest bei der üblichen Färbung mit Giemsa vorsichtig mit stark verdünnter Säure, so zeigen sich die Körnchen der Chlamydozoen rot gefärbt, ein Zeichen ihrer oxychromatischen Natur, während das sie einhüllende Plastin blau gefärbt wird.

Bei Malariauntersuchungen während des Krieges habe ich die Erfahrung gemacht, daß nicht fixierte, sondern nur luftgetrocknete Ausstriche von Blut vorzügliche Bilder ergeben, wenn man den Farbstoff von Giemsa statt in Aqua dest. in Leitungswasser verdünnt. Vor allem tritt hierbei die Schüffnersche Tüpfelung außerordentlich stark und deutlich in Erscheinung. Die mit Alkohol fixierten, in vorschriftsmäßiger Weise behandelten Kontrollpräparate zeigten diese Tüpfelung in weit geringerem Maße, so daß sich der Gedanke nicht von der Hand weisen läßt, daß der Alkohol eine lösende Wirkung auf die Schüffnersche Tüpfelung ausüben muß.

Bekannt ist allen auch die schwere Färbbarkeit der Syphilis- und der Weil-spirochaete. Auch hier erzielt man eine bessere Sichtbarmachung der Spirochaeten, wenn man die Fixierungsflüssigkeiten wegläßt. Das infizierte Material muß ausgestrichen werden auf einem so stark erwärmten Objektträger, daß es sofort lufttrocken ist. Fixiert wird dann nochmals durch die Flamme und sofort gefärbt.

Bei meinen Untersuchungen war ich daher bestrebt, den umstimmenden Einfluß unserer fixierenden und beizenden Lösungen und ebenso der Lösungsmittel der Farbstoffe auf die genuinen Eiweißkörper, wodurch deren normale Reaktionen unterdrückt werden, möglichst auszuschalten, um vielleicht auf diesem Wege einen einwandfreieren Aufschluß über die Natur der Guarnierischen Körperchen zu erhalten, als dies bisher möglich war.

Über die Gewinnung des Materials sei hier kurz das Folgende bemerkt: Mit einem scharfen Augenmesser wurden auf der Kaninchencornea 4—6 schräg zur Oberfläche liegende Impfschnitte geführt, die das ganze Epithel durchschneidend bis tief in das eigentliche Corneagewebe eindrangen. Dabei muß man sich naturgemäß

vor einem Durchschneiden der Cornea hüten, da sie dann als Impfobjekt nicht mehr zu gebrauchen ist.

Nach vorsichtiger Auftragung der Kuhlymphe in der Längsrichtung des Schnittes, wobei die Lymphe schnell in die Spalten der Schnitte tief eindringt, wurde mit einem sterilen Objektträger ein leichter Druck auf die Oberfläche der Cornea ausgeübt, um dadurch die klaffenden Schnitte mehr oder weniger zu schließen. Bei dieser Art der Impfung konnte ich stets gute Erfolge erzielen, während die anderen Methoden der Skarifizierung des öfteren versagten, insofern wenigstens als die Ausbeute für die Guarnierischen Körperchen eine schlechte war.

Das Material wurde untersucht im Ausstrich im frischen, im feucht fixierten, im angetrockneten fixierten und im angetrockneten unfixierten Zustand, im Schnitt bei verschiedenen Fixierungsarten von 1 Stunde nach der Impfung an beginnend bis zu 18 Tagen nach der Impfung. Dann erst ist der Krankheitsverlauf an der Cornea nach meinen Erfahrungen abgeklungen.

Bei der Untersuchung des infizierten Gewebes im Schnittpräparat fielen mir sehr bald einzelne Zellkerne auf, die bei den gewöhnlichen Kernfärbungen eine viel größere Affinität zu den Farbstoffen zu besitzen schienen als die Kerne ihrer Umgebung und sich zum Teil so stark überfärbten, bei sonst normal gefärbtem Präparat, daß ein Erkennen ihres Inhaltes nicht möglich war. Von diesen stark überfärbten Kernen bis zum normal gefärbten Kern waren alle Zwischenstufen vorhanden. Ihr Auftreten beginnt später als das der Guarnierischen Körperchen; sie nehmen an Zahl ständig zu, um mit der Heilung wieder zu verschwinden. Bei der chemischen Prüfung des Inhaltes dieser Kerne habe ich feststellen können, daß ihr Gehalt an Nukleinen bedeutend erhöht ist. In dem Methylgrün der Biondischen Lösung haben wir ein spezifisches Reagens auf Nukleine, das so empfindlich ist, daß damit die kleinsten im Mikroskop noch sichtbaren Teilchen von Nuklein deutlich grün gefärbt erscheinen. Bei möglichster Schonung der Zelleiweißkörper durch die Fixierung konnte ich durch die Färbung nach Ehrlich-Biondi-Heidenhain feststellen, daß in den betreffenden Kernen das Nuklein eine Vermehrung erfahren hat. Ob es sich hierbei um eine Vermehrung des Basichromatins oder des Oxychromatins handelt, entzieht sich vorläufig meiner Beurteilung. Diese Vermehrung des Nukleins scheint mir aber nicht ohne Bedeutung; sie gibt vielleicht einen Fingerzeig für die verhältnismäßig schnelle Regeneration des mit Vakzine infizierten Corneagewebes. Auf die Bedeutung der Kerne an und für sich komme ich später zurück.

Es kam mir zunächst darauf an, festzustellen, ob Prowazeks Annahme, die Guarnierischen Körperchen zu den Chlamydozoen zu rechnen, richtig war oder nicht. Prowazek selbst sagt darüber in der Münch. Med. Wochenschrift 1908, Nr. 19 folgendes: „Sie (die Chlamydozoen) gehen größtenteils und auf gewissen Entwicklungsstadien durch die Filter hindurch, sind rund, sehr klein (ca. $^1/_4$—$^1/_2$ μ), teilen sich nach Art der Kokken und rufen in den befallenen Zellen zumeist aus Kernsubstanzen bestehende Reaktionen hervor. Diese Reaktionen sind zum Teil unter dem Namen der Guarnierischen, Negrischen, Mallorys, Bolles, Molluskumkörperchen bekannt und sind zunächst Ausdruck einer Abwehrtätigkeit der Zellen. — Die Orga-

nismen besitzen eine Entwicklung, die aber nur zum Teil bekannt ist; ihre Feststellung ist ungemein schwierig. — Die Chlamydozoen der Vakzine, der Lyssa, des Trachoms und der Gelbsucht der Seidenraupen sind auf ihrem ersten Entwicklungsstadium von Schleimhüllen umgeben, die später nicht mehr darstellbar sind. Aus diesen Initialkörpern gehen durch fortgesetzte Teilung sehr kleine Körperchen hervor, die bei Vakzine Paschen beobachtet hatte." Sind nun aber die Guarnierischen Körperchen Chlamydozoen, so müssen sie bei richtiger Behandlung auch ein den Chlamydozoen ähnliches Körnchenbild zeigen, wie die Chlamydozoen des Trachoms oder der Schweinepest. Dieser Nachweis war aber auch Prowazek nicht gelungen. Nach dieser Richtung hin hatten unsere üblichen Färbemethoden bisher versagt. Weiterhin war zu untersuchen, was wird aus den Guarnierischen Körperchen? Man kannte sie von kleinen Anfängen an bis zu einer bestimmten Größe, die etwa ein Drittel bis ein Halb des Kernes betrug, im Protoplasma der Zelle liegend. Als solche verschwanden sie nach kurzer Zeit und die infizierte Cornea heilte aus. Aus welchem Grunde und in welcher Form sie verschwanden, darüber ist nichts Sicheres bekannt.

Zur Färbung benutzte ich Azur I, wovon ich ein halbes Gramm in 150,00 g 70%igen Alkohols auflöste. Hiervon brachte ich etwa 15 Tropfen auf ein trockenes Corneaklatschpräparat mit Guarnierischen Körperchen. Die Azurlösung blies ich durch meinen Atem langsam auf dem Objektträger hin und her, bis der blaue Farbstoff völlig eine rot-violette Tönung angenommen hatte, und spülte dann in Leitungswasser ab. Nach häufigeren Versuchen erhielt ich hierdurch ab und zu Präparate, in denen die Guarnierischen Körperchen förmlich ausgefüllt waren mit feinsten roten Körnchen von einer nicht mehr meßbaren Kleinheit, die sich aber von dem blauen Grunde des Plastins in außerordentlicher Schärfe abhoben. Das gewonnene Bild entsprach dabei dem der Chlamydozoen beim Trachom und der Schweinepest, nur daß die Körnchen von weit größerer Feinheit waren.

In gleicher Weise gelang mir auch bald die Färbung der Guarnierischen Körperchen in den Schnitten.

Befriedigen konnte die Art der Färbung jedoch nicht, da sie insofern keine sicheren Resultate ergab, als sie einmal gelang, das andere Mal nicht. In dem reinen Azur hatte ich zunächst jedenfalls einen Farbstoff, mit Hilfe dessen ein Sichtbarmachen des Inhaltes der Guarnierischen Körperchen möglich war. Es ergab sich sofort die Frage, war das Nochtsche Rot, das im Azur enthalten ist, die Ursache der Färbung, oder war der oben erwähnte Umschlag in die rot-violette Tönung erforderlich. Wenn letzteres zutraf, war die Frage, geschah die Färbung in statu nascendi oder ließ sich der Farbstoff durch chemische Beeinflussung vorher derart verändern, daß man mit einer fertiggestellten Lösung die gleiche Wirkung erzielte. In dieser Richtung angestellte Versuche ergaben bald, daß die acidophile Komponente im Azur allein zur Erzielung der Wirkung nicht ausreichte; die Körperchen blieben inhaltslos. Außerdem sprach auch der Umstand dagegen, daß die Körnchen ein ganz anderes Rot zeigten als die eosinophilen Bestandteile der Zellen. Dagegen hatte ich mit folgender Umänderung des Farbstoffes Erfolg: 1 g Azur I löst man in 30 Teilen Methylalkohol und

70 Teilen Aqua dest. Von dieser Stammlösung werden wiederum verschiedene Verdünnungen mit Aqua dest. angesetzt von 1 : 5 bis 1 : 50 und durch diese Lösungen dann längere Zeit (mindestens 3 × 24 Stunden) Sauerstoff hindurchgeleitet. Dadurch gewann ich einen umgeänderten Azur I-Farbstoff, der längere Zeit haltbar blieb und die Chlamydozoennatur der Körperchen sichtbar machte. Hierbei sei erwähnt, daß sich aber nicht jede Art der Fixierung für die Färbung eignet. Am besten hat sich mir die Fixierung nach Zenker erwiesen, die außerordentlich sorgfältig ausgeführt werden muß. Die Behandlung der Schnittpräparate ist demzufolge: Fixierung nach Zenker, Einbetten in 58gradiges Paraffin, Schneiden in 5—6 μ Dicke (dünnere Schnitte haben keinen Vorteil gezeigt), Ausziehen des Paraffins durch Xylol, Auswaschen des Xylols durch Methylalkohol, Färbung 24 Stunden hindurch im vorbereiteten Azur. Die Schnitte müssen rein blau gefärbt erscheinen. Differenzierung in Methylalkohol, bis die Schnitte rein rosa aussehen. Einbettung in Cedernholzöl.

Die Schwierigkeit der Färbung besteht in der Differenzierung, die schnell, sicher und am besten unter dem Mikroskop ausgeführt werden muß. Eine zu kurze Differenzierung läßt die roten Körnchen nicht erscheinen, da sie noch vom Blau zu stark überdeckt werden; eine zu lang andauernde zieht auch den roten Farbstoff aus.

Ein gut fixiertes und gut gefärbtes Präparat ergibt nun folgendes Bild: Protoplasma und Kerne der nichtinfizierten Zellen sind fast gänzlich entfärbt, die Nukleolen enthalten geringe Spuren von Blau, die Guarnierischen Körperchen sind blaßblau mit roten Körnchen in feinster Verteilung. Außerdem finden sich in jedem infizierten Schnitt in späterer Zeit der Infektion vereinzelt Kerne, die die gleiche blaßblaue Färbung behalten haben wie die Guarnierischen Körperchen und die gleiche feine Körnelung zeigen.

Die beigegebenen Figuren 1—10 (Tafel VII) zeigen die Entwicklung des Guarnierischen Körperchens im Protoplasma der Zelle[1]). Man findet sie meist in der Nähe des Kerns liegen in runder oder ovaler Form. Liegen sie am Kern, so ist dieser eingedellt. Eine leichte Eindellung findet sich aber auch, wenn sie weiter ab vom Kerne liegen.

Fig. 1 zeigt ein kleines Guarnierisches Körperchen mit einem Körnchen und stellt den Beginn der Infektion dar. Der Erreger ist in die Zelle eingedrungen, im Protoplasma liegen geblieben und dort mit einer Plastinhülle umgeben worden. Fig. 2 zeigt eine Zweiteilung des Erregers; die Körnchen sind noch durch einen feinen roten Faden miteinander verbunden. Fig. 3 und 4a geben eine Vierteilung wieder. 4b ist nur eine Vergrößerung von 4a, um zu zeigen, wie auch hier je zwei Körnchen noch miteinander verbunden sind. Nr. 5 bringt als Sechserform sehr gut die hantelförmige Teilung zur Anschauung, wie sie von Prowazek schon für den Pockenerreger vermutet wird. Die Teilung schreitet fort, bis endlich die ganze Plastinmasse mit feinsten Körnchen ausgefüllt ist, unter denen sich einige gröbere befinden (Fig. 8a und b). In diesem mit Körnchen angefüllten Zustande finden sich auch noch Guarnierische Körperchen, wie sie in Fig. 9a und b wiedergegeben sind. Im weiteren Verlauf hellt sich nämlich

[1]) Aus praktischen Gründen habe ich nicht die ganzen Schnitte gezeichnet, sondern nur die einzelnen Zellen; bei den Fig. 3—4b und 6—9b sind nur die Guarnierischen Körperchen ohne umgebende Zelle gezeichnet.

die Mitte des Körperchens auf und wird frei von Körnchen, die nun dichtgedrängt am Rande liegen. Ich glaube aussprechen zu dürfen, daß dies das letzte Stadium vor dem Zerplatzen der Plastinhülle ist, und daß nunmehr die Körnchen in der ganzen Zelle zur Ausstreuung kommen. Nach dem Zerplatzen findet sich der Plastinrest als ein Klümpchen zusammengeballt an irgendeiner Stelle im Protoplasma (Fig. 10).

Jedenfalls ist in diesem Stadium der Entwicklung der Guarnierischen Körperchen die Zelle in einem allgemeinen Zerfall begriffen, was durch die deutliche Degeneration des Protoplasmas und des Kernes bewiesen wird. Der Kern ist völlig abgeblaßt, glasig und strukturlos. Mehrfach lassen sich aber solche Zellen finden, in denen der Plastinrest als ein Klümpchen zusammengeballt an irgendeiner Stelle im Protoplasma liegt und die Körnchen im Protoplasma zerstreut sind. Nach dem Zerfall der Zelle können die dadurch freiwerdenden Körnchen nun wiederum von anderen Zellen ihrer Umgebung aufgenommen werden oder in sie eindringen.

Wenn man sich so auch einen gewissen Entwicklungsgang der Guarnierischen Körperchen vorstellen kann, so muß es bei der außerordentlichen Ansteckungsgefahr der Pocken und bei der Möglichkeit, schon mit kleinsten Mengen von Kälberlymphe erfolgreiche Impfungen auf der Kaninchencornea zu erzielen, andererseits doch als auffallend bezeichnet werden, daß man immer eine nur verhältnismäßig geringe Anzahl von Guarnierischen Körperchen in einer gut infizierten Kaninchencornea findet. Dies verursachte mir bei der Durcharbeitung meiner Präparate häufig ein unbefriedigendes Gefühl, und ich suchte deshalb nach weiteren für die Pockeninfektion charakteristische Vorgängen.

Nun hatte ich, wie schon bemerkt, gleich zu Beginn meiner Untersuchungen bei den üblichen Färbungen zur Gewinnung von Übersichtsbildern im infizierten Gewebe Kerne gefunden, die sich durch ihre starke Überfärbung vor ihren Nachbarkernen auszeichneten. Durch chemischen Nachweis hatte ich eine Anreicherung des Nukleins feststellen können. Diese Kerne erweckten meinen Verdacht und ich stellte an ihnen eine Reihe weiterer Untersuchungen an.

Guarnierische Körperchen treten bereits, wie ich als bekannt voraussetzen darf, wenige Stunden nach der Infektion auf, die mir verdächtigen Kerne aber erst in späterer Zeit. Auch in Präparaten von gesundem Gewebe irgendwelcher Art findet man die Kerne häufig verschieden stark gefärbt, je nach ihrer Tätigkeit, ihrem Lebensalter und ihrem chemischen Verhalten. Aber immerhin bewegt sich dieser Unterschied in mäßigen Grenzen und nur im Stadium der Kernteilung findet sich eine starke Überfärbung des Kernes. Von einer Kernteilung aber zeigten die mir verdächtigen Kerne nichts. Weitere Untersuchungen von gesundem sowohl wie mit anderen Krankheitserregern infiziertem Corneagewebe vermehrten meinen Verdacht, in diesen Kernen etwas vor mir zu haben, was spezifisch für die Infektion mit Pocken war.

Eine Unterfärbung der Präparate ergab zunächst keine weiteren Anhaltspunkte; zwar gestatteten die Kerne jetzt einen Einblick in ihr Inneres, ließen jedoch nichts Besonderes erkennen. Ein überraschendes Bild gab dagegen die Färbung nach Mallory. Ein Teil der Kerne nahm dieselbe Färbung an wie die Guarnierischen Körperchen, nämlich die rein gelbe, die normalen Kerne färbten sich rot, und zwischen beiden gab

es wiederum Übergänge vom Gelb zum Rot. Bei einer Färbung mit Säurefuchsin und Nachfärbung mit Azur blieben die Guarnierischen Körperchen und die verdächtigen Kerne rot, während die normalen Kerne sich in üblicher Weise blaugrün färbten.

Hier sei eingefügt, daß es sich bei diesen Versuchsfärbungen stets um die Färbung von 3—4 μ starken Serienschnitten handelt, von denen sich jedesmal nur ein Schnitt auf einem Objektträger befand, so daß ich in jedem vorhergehenden und jedem nachfolgenden Schnitt die Kontrolle für den zu untersuchenden besaß.

Eine ganze Reihe weiterer Kontrastfärbungen ergab stets wieder das gleiche Bild: Die Guarnierischen Körperchen und die verdächtigen Kerne nahmen den gleichen Farbstoff an im Gegensatz zu den normalen Kernen. Eine Aufklärung wollte mir nicht gelingen, es trat im Gegenteil noch eine Erschwerung hinzu, als ich bei diesen Versuchen an Stellen einer älteren Infektion Lücken in den Zellen fand, die scheinbar daher rührten, daß die eine oder andere Zelle keinen Kern mehr hatte. Aufgenommene Kontrolluntersuchungen bestätigen auch dies als etwas Besonderes für die mit Guarnierischen Körperchen infizierte Cornea.

Fig. 12 gibt eine solche Stelle wieder. Das Präparat ist gefärbt mit Eisenhämatoxylin, dann makroskopisch völlig entfärbt und nachgefärbt mit Säurefuchsin. Links liegen 6 jüngere Guarnierische Körperchen, rechts unterhalb der Mitte ein größeres kreisrundes; die übrigen dunkelgefärbten 5 Gebilde sind Zellkerne, rechts oben in einer Zelle eine Lücke durch den Verlust des Zellkernes.

Bei längerem Studium dieser Zellkerne glaubte ich ab und zu in ihnen Körnchen in hantelförmiger Teilung begriffen sehen zu können, wie es in Abbildung 12 an drei Stellen ebenfalls erkennbar ist. Ebenso ist gut zu sehen, daß der rechts unten liegende Kern sich kaum von dem darüberliegenden Guarnieri unterscheiden läßt.

Die hantelförmigen Teilungen erweckten meinen Verdacht, daß in den Kernen zellfremde Körper eingebettet waren, die auch die Vermehrung des Nukleingehaltes bedingten.

Die versuchsweise Färbung mit Azur brachte zunächst keinen Erfolg; auch jede Art der Beizung war ergebnislos. Endlich bestätigte folgendes Verfahren die Richtigkeit meines Verdachtes. Ich färbte die Präparate 10 Minuten lang mit 1%iger Säurefuchsinlösung, der ich unmittelbar vor dem Gebrauche noch Spuren von Eisessig hinzusetzte, spülte ausgiebig mit Aqua destillata ab und färbte nach mit der alkoholischen Azur I-Lösung und dem Blaseverfahren, bis das Azur wieder den rot-violetten Ton angenommen hatte. So erhielt ich Schnitte, in denen manchmal in den Guarnierischen Körperchen die Körnchen deutlich zu erkennen waren; die verdächtigen Kerne waren ebenfalls mit Körnchen angefüllt und zwar um so mehr, je stärker in dem Serienschnitt vorher oder nachher der entsprechende Kern bei normaler Färbung überfärbt war. Diese Art der Färbung war mir jedoch nicht genügend einwandsfrei insofern, als ich nicht wußte, inwieweit das Säurefuchsin dabei als Beize wirkte, und es mir darauf ankommen mußte, eine reine Färbung zu erzielen, ohne das Eiweiß in irgendeiner Weise zu beeinflussen. Denn nur in dem Falle, wenn dies gelang, glaubte ich Schlüsse aus dem Befunde ziehen zu dürfen. Außerdem zeigte sich bald, daß der Farbstoff, in dieser Form angewandt, nicht gleiche Resultate ergab. In dem

einen Schnitt waren die Körnchen rot und entsprachen in ihrer Größe den Körnchen in den Guarnierischen Körperchen, in dem anderen Schnitt waren sie mehr oder weniger blau gefärbt und durchschnittlich etwas größer. Die neue Azurlösung brachte mir auch hier endlich Aufklärung. Die Behandlung der Schnitte ist im wesentlichen die gleiche wie bei der Herstellung der Körnchen im Guarnierischen Körperchen, nur mit dem Unterschied, daß die Differenzierung etwas weiter durchgeführt werden muß, um die Körnchen in den Kernen scharf hervortreten zu lassen. Bei diesem Verfahren werden aber die Körnchen in den Guarnierischen Körperchen gänzlich entfärbt. Der Grund dafür liegt meines Erachtens darin, daß die Kerne von einer stärkeren Hülle umgeben sind als die Guarnierischen Körperchen. Die Körnchen in den Kernen gleichen nunmehr aber völlig denen der Guarnierischen Körperchen; in den mit Körnchen noch nicht völlig ausgefüllten Kernen findet man auch Teilungsstadien. Die Abbildung 13 zeigt einen Schnitt mit einem mit Körnchen angefüllten Zellkern.

Der Kern hebt sich von den Kernen seiner Umgebung durch eine gleichmäßige blaue Tönung ab, die ebenfalls der Farbtönung der Guarnierischen Körperchen völlig entspricht; eine Struktur läßt er nicht mehr erkennen. Die Größe der Körnchen ist die gleiche wie in den Guarnierischen Körperchen, und sie sind stets rot gefärbt.

Die Abbildung 11 zeigt einen Kern mit wenigen in der Teilung begriffenen Körnchen.

Wie soll man diese Gebilde deuten und welche Bedeutung fällt ihnen zu? Die Beantwortung ist meines Erachtens nicht leicht. Zunächst wäre daran zu denken, daß es sich um durch Entzündungsprozesse ausgelöste Kernveränderungen handelt. Auffallend ist es dann, daß derartige Erscheinungen bei andern Entzündungsvorgängen an der Kaninchencornea, die auch mit einer lebhaften Zellproliferation einhergehen, sich nicht nachweisen ließen. Im Gegenteil konnte ich derartige Bilder nur bei der Pockenepitheliose finden.

Weiterhin möchte ich hier auf einen Befund von Keysselitz und Mayer (Archiv für Schiffs- und Tropenhygiene Bd. 13, Beihefte 1909) aufmerksam machen, den sie an inneren Organen von an Pocken verstorbenen Negern in Ostafrika erheben konnten. Sie fanden vorzüglich in der Leber kleine Herde mit nekrotischem Zentrum, an deren Peripherie die Zellen neben Degenerationserscheinungen deutliche Einschlüsse aufwiesen und zwar im Plasma und im Kern. Im Jahre 1906 hat auch schon Paschen den Verdacht ausgesprochen, daß wir in dem Pockengift ein Kerngift vor uns haben.

Wenn man sich dieser Anschauung, für die manches spricht, anschließt, so wird man auch daran denken müssen, daß diese Körnchen vielleicht mit den Pockenerregern in Verbindung zu bringen und den Körnchen in den Guarnierischen Körperchen gleichzustellen sind. Dann könnte man sich den Infektionsvorgang etwa in folgender Weise vorstellen:

Mit der Impfung gelangt der Pockenerreger in den Impfschnitt der Cornea, um von da aus in das Epithel einzudringen. Weiterhin müßte dann sein Bestreben sein, in den Kern zu wandern. Dies gelingt ihm nicht in allen Fällen, sondern ab und

zu bleibt er in dem Maschengewebe des Protoplasmas hängen. Das Protoplasma erwidert mit einer Abwehrmaßregel und umgibt den Eindringling mit Plastin. Dadurch ist der Erreger zum Guarnierischen Körperchen geworden. In dieser Plastinschicht vermehrt er sich bis zur Reife des Guarnierischen Körperchen, nach dessen Zerplatzen er neue Zellen befällt.

Soweit er auf der Wanderung zum Kern der Zelle nicht aufgehalten wird, dringt er in den Kern ein. Manche Bilder erwecken auch in gewissem Sinne den Eindruck, als ob der Kern das Eindringen zu verhindern sucht. Die Eindellung des Kernes ist vielleicht als eine solche Abwehrmaßregel anzusehen. Denn die Einbuchtung des Kernes zeigt sich z. B. schon in sehr vielen Fällen, wenn das Guarnierische Körperchen noch weit ab vom Kerne sich befindet. Durch Abgabe von Substanz ist die Einbuchtung nicht zu erklären, da das Plastin vom Protoplasma der Zelle geliefert wird. Durch Druck vonseiten des Guarnierischen Körperchens aus der Ferne auf den Kern kann die Einbuchtung ebenfalls nicht zustande kommen, da das Zellprotoplasma keine feste Masse ist und dadurch ein Druck auf den Kern von allen Seiten ausgeübt wird.

Nach dem Eindringen in den Kern vermehrt sich der Erreger auf Kosten des Kernes, den er zum Absterben bringt. Der Kern wird mehr und mehr angefüllt, bis schließlich die Umhüllung den Druck nicht mehr aushält und platzt. Die Körnchen breiten sich weiter aus und in der abgestorbenen Zelle sehen wir nun an Stelle des Kernes eine Lücke, wie es bereits oben beschrieben ist. Das Protoplasma der abgestorbenen Zelle wird von einer danebenliegenden Zelle umflossen und verdaut. Der ganze Krankheitsverlauf an der Kaninchencornea dauert nach meiner Erfahrung 18—21 Tage. Nach 21 Tagen ist die Cornea abgeheilt, so daß sich an den Epithelzellen mikroskopisch etwas Besonderes nicht mehr nachweisen läßt.

Herr Paschen hatte die Liebenswürdigkeit, mir im Winter 1918 in Hamburg seine Präparate mit den von ihm als Pockenerregern angesprochenen Körnchen zu zeigen. Auf Grund weiterer vergleichender Untersuchungen mit Originalpräparaten von Herrn Paschen glaube ich, daß die von Paschen als Erreger ausgesprochenen Körnchen sich decken mit meinem Körnchenbefund in den Guarnierischen Körperchen und in den Kernen. Damit wäre der von mir selbst verlangte Zusammenhang zwischen beiden hergestellt. Ferner würde darin der Beweis für die Annahme Prowazeks zu erblicken sein, als er die Vermutung aussprach, in den Guarnierischen Körperchen Chlamydozoen vor sich zu haben.

Prowazek beschreibt weiterhin in der erwähnten Arbeit Initialstadien, das sind mit Giemsa tiefdunkelrot gefärbte Körnchen, die im Protoplasma in der Nähe des Kernes oder von ihm entfernt liegen, sich zuweilen hantelförmig teilen, von einem roten Saum umgeben sind, der wiederum von einer ausgefaserten, unregelmäßigen Masse blauen Plastins umgeben ist. Hieraus sollen sich nach ihm die Guarnierischen Körperchen entwickeln, die nach seiner Annahme aus dem fremden Innenkörper, der chromatischen Umhüllung und dem Plastinmantel bestehen. Auch darin decken sich meine Ergebnisse im wesentlichen mit denen Prowazeks. Nur bin ich der Ansicht, daß der rote Saum seiner Initialstadien und die chromatoide Umhüllung der

Guarnierischen Körperchen durch Färbung hervorgerufene Kunstprodukte sind. Denn bei meiner Färbung liegen die Initialstadien als klare rote Pünktchen im Protoplasma ohne jeden roten Saum und selbst der feinste Zwischenraum zur Umgebung ist nicht zu bemerken. Das gleiche ist in den Guarnierischen Körperchen der Fall; auch hier habe ich niemals eine chromatoide Umhüllung feststellen können.

Abschließend fasse ich mich dahin zusammen, daß es mir gelungen ist, durch die von mir angegebene Färbungsmethode Einblick in die Guarnierischen Körperchen gewonnen zu haben, so daß ich sie in ihrer Entwicklung verfolgen konnte, daß ich weiterhin in den Zellkernen Gebilde darzustellen vermochte, die nach meinen bisherigen Beobachtungen spezifisch zu sein scheinen für die Vaccineinfektion an der Kaninchencornea und die hinsichtlich ihres mikroskopischen und färberischen Verhaltens den Körnchen in den Guarnierischen Körperchen gleichen.

Zum Schlusse möchte ich hier noch kurz folgender Befunde Erwähnung tun.

Ein Makakus rhesus war am Arm mit Vaccine geimpft und gleichzeitig mit einem Kubikzentimeter Lymphe intravenös gespritzt. In den Epithelzellen der Armimpfstelle fand ich Guarnierische Körperchen (meines Wissens der erste derartige Befund, es war im Jahre 1911) und die roten Körnchen. Nach 10 Tagen tötete ich den schwer erkrankten Affen. In den Zellen der geschwollenen Milz ließen sich die beschriebenen Körnchen zum Teil in Nestern zusammenliegend nachweisen.

Hierbei sei erwähnt, daß es keinerlei Schwierigkeit bereitet, die roten Körnchen von allen eosinophilen Bestandteilen der Zelle zu unterscheiden, da die rote Tönung beider von wesentlicher Verschiedenheit ist.

Guarnierische Körperchen finden sich nach der Corneaimpfung bisweilen auch in den Conjunctivalzellen. Namentlich erhob ich solche Befunde in Fällen, bei denen durch das Herausheben des bereits infizierten Auges zum Zweck der Entnahme von Material die Conjunctiva besonders gereizt wurde. Anscheinend dringt in die gezerrte Conjunctiva, die dabei Verletzungen ausgesetzt ist, das nach der Abschabung frei gewordene, auf dem Augapfel sich befindende Virus besonders leicht ein.

Über diese Befunde, wie über wechselseitige Impf- und Immunisierungsversuche durch Vaccine- und Hühnerpockenmaterial bei Hühnern und Kaninchen mit positivem Erfolg soll späterhin berichtet werden.

Der Einfluß wiederholter Aderlässe auf die Antikörperbildung.

Von

Dr. med. Karl W. Jötten,

früherem wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte,
jetzigem Privatdozenten für Hygiene und Assistenten am hygienischen Institut der Universität Leipzig.

Im 3. Heft des 26. Bandes der Zeitschrift für Immunitätsforschung haben **Hahn** und **Langer** eine interessante Mitteilung gebracht über das Verhalten der Immunkörper bei täglich wiederholter Blutentziehung. Sie waren bei ihren Versuchen von der Erwägung ausgegangen, daß die blutbildenden Organe auf größere Aderlässe mit einer Blutüberproduktion reagieren, und daß gleichzeitig damit eine vermehrte Antikörperbildung hervorgerufen werde.

Zur Klärung dieser Fragen hatten sie Kaninchen zunächst mit wenigen steigenden Dosen von abgetöteten Typhus-, Paratyphus- oder lebenden Dysenteriebacillen vorbehandelt und mit den täglichen Blutentnahmen dann begonnen, sobald die Prüfung des Agglutinationstiters der Kaninchenseren konstante Werte ergab oder die Antikörperkurve bereits absteigende Werte erkennen ließ. Es wurden täglich 20 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen. Die Immunkörperprüfungen ergaben bei den Agglutininen eine regelmäßige Steigerung des Titers, der eine außerordentlich beträchtliche, bisher noch nicht gekannte Höhe erreichte, während bei den Hämolysinen und Präzipitinen in keinem Falle Titersteigerungen erzielt wurden.

Diese Mitteilungen der beiden genannten Autoren sind auch von großem praktischen Interesse, falls es nach dieser neuen Methode mit wenigen kleinen Antigengaben und nachfolgenden Blutentnahmen auf verhältnismäßig einfachem Wege gelänge, besonders hochwertige, diagnostische Seren herzustellen. Es würde dieses eine nicht unerhebliche Erleichterung und Materialersparnis in der Serumherstellung zur Folge haben. Auch die Tierverluste, die bei den bisher üblichen Immunisierungsverfahren bei manchen Bakterienarten nicht zu vermeiden sind, würden sich dadurch infolge der geringeren Antigenzufuhren verringern lassen, was bei dem jetzigen Tiermangel besonders wertvoll wäre.

Der Einfluß des Aderlasses auf die Immunkörperbildung ist früher schon häufig Gegenstand eingehender Prüfungen gewesen. Die Resultate sind jedoch keineswegs übereinstimmend ausgefallen. Bei der Einwirkung auf die agglutinierenden Antikörper

kommen die meisten Autoren fast durchwegs zu einem absolut negativen Ergebnis (Rothberger (1), Lüdke (2), Lüdke und Körper (3), Fränkel und Otto (4)). Dagegen hat Lentz (5) bei einer Typhuskranken, deren Agglutinationsreaktionen vorher stets negativ waren, beobachtet, daß der Typhus-Widal im Anschluß an Blutungen positiv wurde. Ein ähnlicher Fall wird von Leube (6) beschrieben.

Bei den hämolytischen, präzipitierenden, bakteriolytischen und antitoxischen Antikörpern variieren die Resultate noch mehr. Von einem Teil der Untersucher wurde ein Absinken der Präzipitine, Antitoxine und Hämolysine gefunden (Rostoski (7), Salomonsen und Madsen (8), Lüdke (9)), einige wieder wollen nach vorübergehendem Rückgang einen allmählichen Ersatz der Antitoxine bis zur ursprünglichen Titerhöhe gesehen haben (Roux und Vaillard (10), Salomonsen und Madsen (11)), und endlich konnten Versuchsergebnisse beobachtet werden, die eine vermehrte Produktion der Bakteriolysine, Hämolysine, Antitoxine und Präzipitine nach Aderlässen erkennen ließen (Friedberger (12), Friedberger und Dorner (13), Dreyer und Schröder (14), Leers (15)).

Diese Unstimmigkeiten in den Versuchsergebnissen wollen Hahn und Langer darauf zurückführen, daß bei der Wahl des Zeitpunktes für die Blutentnahme das Immunisierungsstadium der Versuchstiere nicht genügend berücksichtigt und vor allem die Größe des Aderlasses zu willkürlich gewählt worden ist. Um aber einen effektvollen Reiz auf die blutbildenden Organe zur Blutüberproduktion hervorzurufen, genügt es ihres Erachtens nicht, nur einen oder wenige Aderlässe vorzunehmen. Es sind dazu stärkere Reize erforderlich, wie sie sie bei ihren Versuchstieren durch häufige, regelmäßige und größere Aderlässe ausgelöst haben, die durchwegs zu einer erheblichen Änderung des Blutes und fast immer zu einer Anämie führten.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit berichtet nun Landau (16) über Versuche, die genau nach den von Hahn und Langer gegebenen Vorschriften angestellt worden sind. Die hierbei bei 7 mit Cholera-, Paratyphus B, Y-Ruhr und Enteritis Gärtner-Bacillen immunisierten Kaninchen mit den täglichen Blutentnahmen gemachten Erfahrungen haben im allgemeinen die von Langer erzielten Ergebnisse nicht bestätigt. Nur beim 7. Kaninchen wurde eine Erhöhung des Agglutiningehaltes am 6. Entnahmetage beobachtet, die aber nach Landaus Ansicht nicht auf die Blutentziehungen, sondern auf die letzte Antigenzufuhr zurückzuführen war. Die Antikörperkurve hatte hier wahrscheinlich ihren Höhepunkt noch nicht überschritten, da schon am 4. Tage nach der letzten Injektion mit den Aderlässen begonnen war. Bei den übrigen 6 Tieren war im Anschluß an die täglichen Blutentziehungen keine Steigerung der Agglutinine im Serum nachzuweisen, vielmehr machte sich eher, besonders nach den ersten Blutentnahmen, ein deutliches Absinken dieser Antikörper bemerkbar.

Ebenso konnte Klinger (17), der die Versuche Hahn und Langers ebenfalls wiederholte, keine Titersteigerungen nach starken Blutentziehungen bei Immunkaninchen erzielen. Die Agglutinintiter blieben entweder nahezu konstant oder zeigten ein leichtes Absinken.

Auch von mir im Anschluß an die Mitteilungen von Hahn und Langer angestellte Versuche haben zu keiner Bestätigung der von diesen Autoren erhaltenen

Ergebnisse geführt, obwohl die Versuchsanordnung genau den Angaben von Hahn und Langer entsprach. Meine Beobachtungen erstrecken sich auf 4 Kaninchen, denen vorher bei 60° abgetötete Typhusbacillen mehrmals intravenös injiziert waren. Nach der letzten Bakterieninjektion wurde der Agglutinintiter des Blutserums der Tiere von Zeit zu Zeit festgestellt und mit den täglichen Blutentnahmen erst begonnen, wenn die Antikörperkurve mehrere Male absteigende Werte zeigte.

Bei 2 Tieren wurden dann täglich 20—25 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen, bei den beiden anderen dagegen nur 5 ccm. Hierdurch sollte gleichzeitig festgestellt werden, ob bei den Agglutininen wirklich nur nach größeren Aderlässen eine Steigerung erfolgte oder ob nicht doch derselbe Effekt mit kleineren Blutentziehungen zu erreichen war, zumal bei den Bakteriolysinen und Hämolysinen von Friedberger und Dorner (13) eine Steigerung schon bei Vornahme kleinerer Aderlässe beobachtet worden war.

Ich lasse zunächst die genaueren Versuchsprotokolle folgen:

Kaninchen Nr. 779.

Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen, Stamm „Renken"
(am 27. 6. 1917 1/8 Öse, am 4. 7. 1/8 Öse und am 11. 7. 1/8 Öse).

17. 7. 1917.	1 : 16 000
21. 7. 1917.	1 : 16 000
27. 7. 1917.	1 : 4000
29. 7. 1917.	1 : 4000. Von diesem Tage ab tägliche Blutentnahme von 20 ccm aus der Ohrvene
30. 7. 1917.	1 : 16 000
31. 7. 1917.	1 : 4000
1. 8. 1917.	1 : 4000
2. 8. 1917.	1 : 2000
3. 8. 1917.	1 : 2000
4. 8. 1917.	1 : 4000
5. 8. 1917.	Keine Blutentnahme
6. 8. 1917.	1 : 2000
7. 8. 1917.	1 : 4000
8. 8. 1917.	1 : 4000
9. 8. 1917.	Keine Blutentnahme mehr
4. 9. 1917.	1 : 800
13. 10. 1917.	1 : 400
5. 2. 1918.	1 : 200

Kaninchen Nr. 780.

Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen, Stamm „Renken"
(am 27. 6. 1917 1/8 Öse, am 4. 7. 1/8 Öse und am 11. 7. 1/8 Öse).

17. 7. 1917.	1 : 16 000
21. 7. 1917.	1 : 8000
27. 7. 1917.	1 : 4000
29. 7. 1917.	1 : 4000. Beginn der täglichen Blutentnahme von 5 ccm aus der Ohrvene
30. 7. 1917.	1 : 4000
31. 7. 1917.	1 : 4000
1. 8. 1917.	1 : 4000
2. 8. 1917.	1 : 4000
3. 8. 1917.	1 : 2000
4. 8. 1917.	1 : 4000
5. 8. 1917.	Keine Blutentnahme
6. 8. 1917.	1 : 2000
7. 8. 1917.	1 : 2000
8. 8. 1914.	1 : 4000
9. 8. 1917.	Keine Blutentnahme mehr.
4. 9. 1917.	1 : 800
13. 10. 1917.	1 : 400
† 4. 12. 1917.	

Kaninchen Nr. 781.

Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen, Stamm „Kauffmann"
(am 27. 6. 1917 $^1/_2$ Öse und am 4. 7. $^1/_2$ Öse).

11. 7. 1917. 1:3200
17. 6. 1917. 1:4000
21. 7. 1917. 1:2000
23. 7. 1917. Beginn der täglichen Entnahme von 20 ccm Blut aus der Ohrvene
24. 7. 1917. 1:1000
25. 7. 1917. 1:1000
26. 7. 1917. 1:1000
27. 7. 1917. 1:1000
28. 7. 1917. 1:1000
29. 7. 1917. Keine Blutentnahme
30. 7. 1917. 1:1000
31. 7. 1917. 1:1000
1. 8. 1917. 1:1000
2. 8. 1917. 1:1000
3. 8. 1917. Keine Blutentnahme mehr
4. 9. 1917. 1:800
13. 10. 1917. 1:400
3. 2. 1918. 1:200
† 1. 4. 1918

Kaninchen Nr. 782.

Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen, Stamm „Kauffmann"
(am 27. 6. 1917 $^1/_2$ Öse und am 4. 7. $^1/_2$ Öse).

11. 7. 1917. 1:12800
17. 7. 1917. 1:8000
21. 7. 1917. 1:4000
23. 7. 1917. Beginn der täglichen Entnahmen von 5 ccm Blut aus der Ohrvene
24. 7. 1917. 1:1000
25. 7. 1917. 1:1000
26. 7. 1917. 1:2000
27. 7. 1917. 1:4000
28. 7. 1917. 1:2000
29. 7. 1917. Keine Blutentnahme
30. 7. 1917. 1:4000
31. 7. 1917. 1:1000
1. 8. 1917. 1:1000
2. 8. 1917. 1:1000
3. 8. 1917. Keine Blutentnahme mehr
4. 9. 1917. 1:800
13. 10. 1917. 1:800
3. 2. 1918. 1:200

Aus diesen Versuchsprotokollen geht zunächst hervor, daß in Übereinstimmung mit den Ergebnissen Landaus in keinem der Fälle durch tägliche Blutentnahmen eine Erhöhung des Agglutinintiters erzielt werden konnte. Außerdem ließen die täglichen größeren Aderlässe keine energischere, durch vermehrte Antikörperbildung in Erscheinung tretende Reizwirkung auf die blutbildenden Organe erkennen als die kleineren, die jeweils ebenso wie die ersteren nur von geringen Titerschwankungen im Laufe der 10 Entnahmetage gefolgt waren. Es konnte aber auch ein erheblicheres Zurückgehen des Agglutiningehaltes bei keinem der 4 Kaninchen festgestellt werden, wie es von Landau, namentlich nach den ersten Blutentnahmen beobachtet war.

Anders dagegen gestalteten sich nun aber die Versuchsergebnisse, wenn nach der letzten Bakterieninjektion nicht abgewartet wurde bis die Agglutininkurve ihren Kulminationspunkt überschritten hatte. Hierbei begannen die Blutentnahmen schon wenige Tage nach der letzten Antigenzufuhr und wurden nicht alle Tage, sondern nur jeden dritten Tag vorgenommen, im ganzen 5 mal.

Bei dieser Versuchsanordnung kam es in dem ersten Falle bei 5 maliger Entziehung zu Titersteigerungen, die in dem Serum nach 2 stündiger Beobachtungszeit eine 40 fache Vermehrung des Agglutiningehaltes feststellen ließen, bei Beobachtung nach 24 Stunden sogar eine 100 fache. Diese Werte bedeuten natürlich eine be-

trächtliche Steigerung der Antikörper, wenn sie auch an die von Hahn und Langer erzielten Werte (1 : 128000000) nicht heranreichen. Die genaueren Versuchsergebnisse sind im nachfolgenden Protokoll wiedergegeben.

Kaninchen Nr. 755.

Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen (am 30. 5. 1917 ¼ Öse, 5. 6. ½ Öse und am 13. 6. 1 Öse).

15. 6. 1917. 1 : 6400 +
1. Blutentnahme 20 ccm

16. 6. 1917. 1 : 6400
2. Blutentnahme 20 ccm

21. 6. 1917. 1 : 256 000 nach 2 Stunden
1 : 256 000 nach 24 Stunden
3. Blutentnahme 20 ccm

23. 6. 1917. 1 : 256 000 nach 2 Stunden
1 : 640 000 nach 24 Stunden
4. Blutentnahme 20 ccm

27. 6. 1917. 1 : 160 000 nach 2 Stunden
1 : 320 000 nach 24 Stunden
5. Blutentnahme 20 ccm

umgebracht am **30. 6. 1917.**
1 : 80 000 nach 2 Stunden
1 : 160 000 nach 24 Stunden

Eisschrankaufbewahrung:

17. 7. 1917. 1 : 80 000 nach 2 Stunden
1 : 160 000 nach 24 Stunden

25. 7. 1918. 1 : 25 000 nach 2 Stunden
1 : 50 000 nach 24 Stunden

Kaninchen Nr. 756.

Immunisierung mit bei 60° abgetöteten Typhusbacillen (am 30. 5. 1917 ¼ Öse, am 5. 6. ½ Öse und am 13. 6. 1 Öse).

15. 6. 1917. 1 : 1 600 +
1. Blutentnahme 5 ccm

18. 6. 1917. 1 : 3 200 +
2. Blutentnahme 5 ccm

21. 6. 1917. 1 : 3 200 +
3. Blutentnahme 5 ccm

23. 6. 1917. 1 : 12 800 nach 2 Stunden
1 : 51 200 nach 24 Stunden
4. Blutentnahme 5 ccm

27. 6. 1917. 1 : 25 600 nach 2 Stunden
1 : 51 200 nach 24 Stunden
5. Blutentnahme 5 ccm

umgebracht am **30. 6. 1917.**
1 : 25 600 nach 2 Stunden
1 : 51 200 nach 24 Stunden

17. 7. 1917. 1 : 25 600 nach 2 Stunden
1 : 51 200 nach 24 Stunden

25. 7. 1918. 1 : 10 000 nach 2 Stunden
1 : 20 000 nach 24 Stunden

Weniger hohe Werte kamen, wie aus dem Protokoll hervorgeht, bei dem zweiten Kaninchen Nr. 756 zur Beobachtung. Es waren bei diesem Tier nur Aderlässe von je 5 ccm vorgenommen und es ist fraglich, ob die geringe Titererhöhung von 1 : 1600 auf 1 : 25600 nicht doch noch durch die letzte Antigenzufuhr hervorgerufen sein könnte, wie bei dem Kaninchen Nr. 7 bei Landaus Versuchen. Diese Möglichkeit ist bei dem anderen Tier Nr. 755 wohl auszuschließen, da eine ganze Reihe Parallelimmunisierungen nach drei Antigendosen von ¼, ½ und 1 Öse abgetöteter Typhusbacillen nie solch hohe Titerwerte ergeben haben.

Beide Tiere wurden am Ende des Versuches umgebracht und das Serum aufgefangen, mit Karbol versetzt, im Eisschrank aufbewahrt und von Zeit zu Zeit die Agglutinintiterhöhe bestimmt, um festzustellen, ob der Antikörpergehalt derselbe geblieben war. Nach Ablauf eines Jahres konnte ein verhältnismäßig nur geringes Absinken bei dem ersten auf 1 : 25000, bei dem zweiten auf 1 : 10000 beobachtet werden. Die auf diese Weise gewonnenen Seren haben somit eine für ihre praktische

Verwertbarkeit ausreichende Haltbarkeit erwiesen, da ein solcher Agglutininverlust auch bei anderen diagnostischen Seren gleichfalls beobachtet wird.

Im Zusammenhang hiermit möchte ich noch kurz einige Beobachtungen mitteilen, die ich bei Versuchen an zwei Kaninchen zu machen Gelegenheit hatte, die auf operativem Wege zu Typhusbacillenträgern gemacht waren. Bei diesen Tieren waren nach Ablauf von 11 Monaten noch immer hin und wieder Typhusbacillen in den Faeces nachzuweisen, und es war auch bei ihnen noch ein Typhus-Widal von 1 : 200 festzustellen, nachdem dieser in der ersten Zeit nach der Operation eine Höhe von 1 : 50 000 und 100 000 erreicht hatte (vergl. die folgenden Protokolle).

Kaninchen Nr. 386.

Operiert September 1916 (1 Öse Typhusbacillen Stamm „Waldhaus" in die Gallenblase injiziert).

Agglutinationsprüfung:

1 Woche nach der Operation: 1 : 50 000 +	10. 8. 1917. 1 : 1600 +. 5. Blutentnahme 5 ccm
2 Wochen „ „ „ 1 : 50 000 +	11. 8. 1917. 1 : 800 +. 6. „ 5 „
4 „ „ „ „ 1 : 50 000 +	12. 8. 1917. Keine Blutentnahme
2 Monate „ „ „ 1 : 400 +	13. 8. 1917. 1 : 1600 +. 7. Blutentnahme 5 ccm
4 „ „ „ „ 1 : 100 +	14. 8. 1917. 1 : 1600 +. 8. „ 5 „
8 „ „ „ „ 1 : 200 +	15. 8. 1917. 1 : 800 +. 9. „ 5 „
11 „ „ „ „ 1 : 200 +	16. 8. 1917. 1 : 1600 +. 10. „ 5 „
6. 8. 1917. 1 : 200 +. 1. Blutentnahme 5 ccm	4. 9. 1917. 1 : 800 +
7. 8. 1917. 1 : 200 +. 2. „ 5 „	13. 10. 1917. 1 : 800 +
8. 8. 1917. 1 : 1600 +. 3. „ 5 „	13. 11. 1917. 1 : 400 +
9. 8. 1917. 1 : 1600 +. 4. „ 5 „	12. 12. 1917. 1 : 200 +

Kaninchen Nr. 387.

Operiert September 1916 (1 Öse Typhusbacillen Stamm „Waldhaus" in die Gallenblase injiziert).

Agglutinationsprüfung:

1 Woche nach der Operation: 1 : 50 000 +	10. 8. 1917. 1 : 800 +. 5. Blutentnahme 20 ccm
2 Wochen „ „ „ 1 : 100 000 +	11. 8. 1917. 1 : 3200 +. 6. „ 20 „
4 „ „ „ „ 1 : 25 000 +	12. 8. 1917. Keine Blutentnahme
2 Monate „ „ „ 1 : 1 200 +	13. 8. 1917. 1 : 1600 +. 7. Blutentnahme 20 ccm
7 „ „ „ „ 1 : 200 +	14. 8. 1917. 1 : 1600 +. 8. „ 20 „
8 „ „ „ „ 1 : 200 +	15. 8. 1917. 1 : 3200 +. 9. „ 20 „
11 „ „ „ „ 1 : 200 +	16. 8. 1917. 1 : 1600 +. 10. „ 20 „
6. 8. 1917. 1 : 200 +. 1. Blutentnahme 20 ccm	4. 9. 1917. 1 : 800 +
7. 8. 1917. 1 : 200 +. 2. „ 20 „	13. 10. 1917. 1 : 800 +
8. 8. 1917. 1 : 400 +. 3. „ 20 „	13. 11. 1917. 1 : 400 +
9. 8. 1917. 1 : 3200 +. 4. „ 20 „	12. 12. 1917. 1 : 100 +

Bei diesen zwei Kaninchen wurden nun ebenso wie in den früheren Versuchen 10 Tage lang Aderlässe von je 20 und 5 ccm vorgenommen. Wie aus den Protokollen hervorgeht, war bei beiden Tieren eine Steigerung der Agglutinine festzustellen, die auch nach mehreren Monaten anhielt und erst langsam zur alten Höhe abfiel.

Der Ausfall dieser Versuche scheint auf den ersten Blick eine Bestätigung der Ergebnisse Hahn und Langers zu bedeuten. Ich glaube aber, daß diese Ergebnisse doch in anderer Weise zu deuten und die Titersteigerungen nicht auf die Blutentnahme zurückzuführen sind. Diese dürften vielmehr durch erneute Bacilleneinschwemmungen

ins Blut bedingt sein, die dadurch zustande kamen, daß der durch die wiederholten Aderlässe in seiner Widerstandsfähigkeit geschwächte Kaninchenkörper die in seiner Gallenblase lokalisierten virulenten Typhusbacillen an dem Übertritt ins Blut nicht mehr hindern konnte. Für eine solche Annahme sprechen die Ergebnisse zweier weiterer Versuche bei den Kaninchen Nr. 822 und 825. Diese Tiere waren mit je 1 Öse lebender Typhuskultur, Stamm „Waldhaus", intravenös gespritzt. Im Anschluß an diese Injektionen konnte mehrere Monate lang ein recht hoher Agglutiningehalt der Seren beobachtet werden, während positive Bacillenbefunde in den Faeces nie erhoben wurden.

Bei diesen zwei Tieren wurden dann dieselben Blutentnahmen wie in den vorigen Fällen angestellt, nachdem die Antikörperkurve abgesunken war und seit längerer Zeit Werte von 1 : 200 zeigte.

Im Gegensatz zu den beiden Bacillenträgerkaninchen Nr. 386 und 387 konnte durch Aderlässe bei diesen Tieren, trotzdem ihre Widerstandsfähigkeit ebenso beeinträchtigt war, eine Agglutininsteigerung nicht hervorgerufen werden, da hier eine Blutinfektion nicht möglich war.

Kaninchen Nr. 822

am 12. 9. 1917 1. Öse Typhusbacillen Stamm „Waldhaus" intravenös.

Agglutinationsprüfung:

1 Woche nach der Injektion: 1 : 12 800 +	28. 7. 1918. 1 : 200 +. 4. Blutentnahme 20 ccm
2 Wochen „ „ „ 1 : 1 600 +	29. 7. 1918. 1 : 200 +. 5. „ 20 „
4 „ „ „ „ 1 : 600 +	30. 7. 1918. 1 : 100 +. 6. „ 20 „
8 „ „ „ „ 1 : 400 +	31. 7. 1918. 1 : 100 +. 7. „ 20 „
4 Monate „ „ „ 1 : 200 +	1. 8. 1918. 1 : 100 +. 8. „ 20 „
8 „ „ „ „ 1 : 200 +	2. 8. 1918. 1 : 200 +. 9. „ 20 „
24. 7. 1918. 1 : 200 +	3. 8. 1918. 1 : 100 +. 10. „ 20 „
25. 7. 1918. 1 : 100 +. 1. Blutentnahme 20 ccm	13. 8. 1918. 1 : 100 +
6. 7. 1918. 1 : 100 +. 2. „ 20 „	3. 9. 1918. 1 . 100 +
27. 7. 1918. 1 : 100 +. 3. „ 20 „	

Kaninchen Nr. 825

am 12. 9. 1917. 1 Öse Typhusbacillen Stamm „Waldhaus" intravenös.

Agglutinationsprüfung:

1 Woche nach der Injektion: 1 : 6 400 +	28. 7. 1918. 1 : 200 +. 4. Blutentnahme 5 ccm
2 Wochen „ „ „ 1 : 1 600 +	29. 7. 1918. 1 : 200 +. 5. „ 5 „
4 „ „ „ „ 1 : 2 400 +	30. 7. 1918. 1 : 200 +. 6. „ 5 „
8 „ „ „ „ 1 : 200 +	31. 7. 1918. 1 : 200 +. 7. „ 5 „
4 Monate „ „ „ 1 : 200 +	1. 8. 1918. 1 : 200 +. 8. „ 5 „
8 „ „ „ „ 1 : 100 +	2. 8. 1918. 1 : 200 +. 9. „ 5 „
24. 7. 1918. 1 : 200 +	3. 8. 1918. 1 : 200 +. 10. „ 5 „
25. 7. 1918. 1. Blutentnahme 5 ccm	13. 8. 1918. 1 : 200 +
26. 7. 1918. 1 : 100 +. 2. Blutentnahme 5 ccm	3. 9. 1918. 1 : 200 +
27. 7. 1918. 1 : 200 +. 3. „ 5 „	

Zum Schluß sei noch kurz darauf hingewiesen, daß bei zwei weiteren Bacillenträgerkaninchen Agglutininsteigerungen auch durch intrakutane Impfungen mit Vakzinevirus und bei zwei anderen gleichfalls eine Vermehrung des Agglutiningehaltes durch mehrmalige intravenöse und subkutane Injektionen von sterilisierter Kuhmilch erzielt werden konnten. Die Versuchsergebnisse sind in den folgenden Protokollen wiedergegeben.

Kaninchen Nr. 383

operiert September 1916. 1 Öse Typhus Stamm „Waldhaus" in die Gallenblase injiziert.

Agglutinationsprüfung:

1 Woche	nach	der	Operation:	1 : 6 400	+
2 Wochen	„	„	„	1 : 25 000	+
4 „	„	„	„	1 : 8 000	+
2 Monate	„	„	„	1 : 200	+
4 „	„	„	„	1 : 200	+
8 „	„	„	„	1 : 50	+

20. 7. 1917. 1 : 50 + geimpft mit Vakzinevirus intrakutan
27. 7. 1917. 1 : 400 +
28. 7. 1917. 1 : 800 +
31. 7. 1917. 1 : 800 +
10. 8. 1917. 1 : 1 200 +

Kaninchen Nr. 384

operiert September 1916. 1 Öse Typhuskultur Stamm „Waldhaus" in die Gallenblase injiziert.

Agglutinationsprüfung:

1 Woche	nach	der	Operation:	1 : 6 400	+
2 Wochen	„	„	„	1 : 16 000	+
4 „	„	„	„	1 : 25 000	+
8 „	„	„	„	1 : 16 000	+
4 Monate	„	„	„	1 : 3 200	+
8 „	„	„	„	1 : 100	+

20. 7. 1917. 1 : 50 + geimpft mit Vakzinevirus intrakutan
27. 7. 1917. 1 : 400 +
28. 7. 1917. 1 : 800 + 1 : 1 600 ±
31. 7. 1917. 1 : 1 000 +
10. 8. 1917. 1 : 800 +

Kaninchen Nr. 388

operiert September 1916. 1 Öse Typhus Stamm „Waldhaus" in die Gallenblase injiziert.

Agglutinationsprüfung:

1 Woche	nach	der	Operation:	1 : 16 000	+
2 Wochen	„	„	„	1 : 16 000	+
4 „	„	„	„	1 : 16 000	+
2 Monate	„	„	„	1 : 1 800	+
4 „	„	„	„	1 : 800	+
8 „	„	„	„	1 : 100	+

8. 9. 1947. 1 : 100 + **2 ccm Milch intravenös**
20. 9. 1917. 1 : 400 +
21. 9. 1917. 3 ccm Milch intravenös
29. 9. 1917. 1 : 800 +
13. 10. 1917. 1 : 400 +
13. 11. 1917. 1 : 200 +

Kaninchen Nr. 389

operiert September 1916. 1 Öse Typhus Stamm „Waldhaus" in die Gallenblase injiziert.

Agglutinationsprüfung:

1 Woche	nach	der	Operation:	1 : 4 000	+
2 Wochen	„	„	„	1 : 12 800	+
4 „	„	„	„	1 : 3 200	+
8 „	„	„	„	1 : 400	+
4 Monate	„	„	„	1 : 200	+
8 „	„	„	„	1 : 50	+

8. 9. 1917. 1 : 50 + **5 ccm Milch subkutan**
20. 9. 1917. 1 : 800 +
21. 9. 1917. 6 ccm Milch subkutan
29. 9. 1917. 1 : 3 200 +
13. 10. 1917. 1 : 800 +
13. 11. 1917. 1 : 400 +

Diese Beobachtungen sind insofern von Interesse, als sie auf die Möglichkeit einer Steigerung oder der Auslösung eines positiven Widals bei Typhusbacillenträgern durch unspezifische Eingriffe hinweisen. Bei der großen praktischen Bedeutung, welche der Frage der Bacillenträgerdiagnose zukommt, erscheinen weitere Versuche nach dieser Richtung angezeigt.

Zusammenfassung.

1. Bei Kaninchen, deren Antikörperkurve nach Immunisierung mit abgetöteten Typhusbacillen bereits absteigende Werte erkennen ließ, konnten Agglutininsteigerungen durch wiederholte Aderlässe nach der von Hahn und Langer angegebenen Methode nicht erreicht werden.

2. Erhebliche Agglutininsteigerungen konnten dagegen bei mit abgetöteten Typhusbacillen immunisierten Kaninchen hervorgerufen werden, wenn mit den regelmäßigen Aderlässen schon kurze Zeit nach der letzten Bacilleninjektion begonnen wurde.

3. Nach kleineren und größeren täglichen Blutentnahmen konnte bei Typhusbacillenträgerkaninchen längere Zeit eine Vermehrung des Agglutiningehaltes des Serums beobachtet werden. Die Agglutininsteigerung ist hierbei wahrscheinlich auf erneute Blutinfektionen zurückzuführen.

4. Ebensolche Agglutininsteigerungen konnten bei Bacillenträgerkaninchen durch intrakutane Vakzineimpfungen und durch intravenöse oder subkutane Injektionen von steriler Kuhmilch hervorgerufen werden.

Abgeschlossen Juli 1918.

Literaturverzeichnis.

1. Rothberger, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 41.
2. Lüdke, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 40. 1906.
3. Lüdke und Körper, Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. Bd. 1, 1913.
4. Fränkel und Otto, Münch. med. Wochenschr. 1897, S. 1065.
5. Lentz, Klin. Jahrbuch Bd. XIV. 1905.
6. v. Leube, Münch. med. Wochenschr. 1898, Nr. 8.
7. Rostoski, Verh. der Physik. Med. Gesellschaft zu Würzburg. N. F. Bd. 35, Nr. 2. 1909.
8. Salomonsen und Madsen, Ann. d. l'inst. Past. 1898, S. 763.
9. Lüdke, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 40.
10. Roux und Vaillard, Annal. de l'inst. Pasteur 1893.
11. Salomonsen und Madsen, Annal. de l'inst. Pasteur 1898, Nr. 8.
12. Friedberger, siehe bei Pfeiffer, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 35, 1904, S. 227.
13. Friedberger und Dorner, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 40. Orig. I. Abt. Bd. II, S. 202.
14. Dreyer und Schröder, zit. nach M. Ficker Handb. der pathog. Organismen von Kolle und Wassermann Bd. II, S. 202.
15. Leers, Die forensische Blutuntersuchung, Berlin 1910.
16. Landau, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. 86.
17. Klinger, Zeitschr. f. Immunitätsforschung. I. Teil. Orig. Bd. 27, Heft 6.

Über die bei der Chlorbestimmung in organischen Substanzen durch Veraschung möglichen Chlorverluste und deren Vermeidung.

Von

A. Weitzel,

Regierungsrat im Reichsgesundheitsamte.

Bei der üblichen Bestimmung des Chlorgehalts organischer Substanzen in der Asche ist ohne Beachtung besonderer Vorsichtsmaßregeln mit Verlusten an Chlor zu rechnen[1]): Einmal können von den bei höherer Temperatur flüchtigen Alkalichloriden Anteile verloren gehen, andererseits kann auch Chlor in Form von Chlorwasserstoffsäure aus den Chloriden durch die bei der Veraschung aus schwefel- und phosphorhaltigen Substanzen gebildete Schwefel- und Phosphorsäure ausgetrieben werden, wenn zur Bindung dieser entstandenen Säuren nicht die genügenden Mengen Basen in dem Material vorhanden sind.

Diesem Übelstand kann dadurch begegnet werden, daß man entweder das Chlor in den dafür geeigneten organischen Substanzen nach dem von A. Weitzel[2]) näher beschriebenen Verfahren ohne Veraschung auf „nassem Wege" bestimmt[3]), oder die Veraschung der organischen Substanz unter Beobachtung der in der Fachliteratur angegebenen Vorsichtsmaßregeln — Zusatz von Alkalien (gebrannter Kalk oder Soda), Veraschen mit Soda-Salpetermischung, besonders vorsichtiges Veraschen ohne jeden Zusatz und nachfolgendes Ausziehen der völlig verkohlten Substanz mit heißem Wasser usw. — ausführt.

Hierzu geben die gebräuchlichsten Hand- und Lehrbücher folgende Anweisungen:

---

[1]) Vergl. z. B. A. Weitzel, Maßanalytische Bestimmung des Chlors in Lebensmitteln usw. ohne Veraschung der Stoffe auf nassem Wege. Diese Arbeiten, Bd. 50, 1917, S. 397.

[2]) Vergl. die vorangehende Fußnote. Dieses Verfahren beruht im wesentlichen darauf, die organische Substanz mit 25 prozentiger Salpetersäure oder 10 prozentiger Kalilauge aufzuschließen und in der aufgeschlossenen, verflüssigten Substanz das Chlor direkt maßanalytisch nach Volhard zu bestimmen.

[3]) Auch auf das wegen des notwendigen Überdestillierens der Salzsäure usw. etwas umständliche Verfahren der „Bestimmung der Salzsäure (aus Chloriden) bei der Säuregemischveraschung" von A. Neumann, der die bei der Zerstörung auf nassem Wege aus den Chloriden abgeschiedene Salzsäure in Silbernitratlösung leitet und nach Volhard maßanalytisch bestimmt, sei bei dieser Gelegenheit hingewiesen (Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. 37, 1902/03, S. 135 u. Bd. 43, 1904/05, S. 36).

In dem Handbuch von Neuberg[1]) wird von S. Fränkel angegeben, die beim Veraschen gebildete poröse Kohle zunächst mit siedendem Wasser erschöpfend auszuziehen, den Auszug durch ein aschefreies Filter zu filtrieren und dann die auf dem Filter gesammelte Kohle mitsamt dem Filter, nötigenfalls bei schwer veraschbarer Kohle unter Zusatz von Ammoniumnitrat, vollends zu veraschen; die Veraschung des Harns zum Zwecke der Chlorbestimmung wird am besten in der Weise ausgeführt (vergl. Neuberg, Der Harn, I. Teil, S. 112), daß man 10 ccm Harn mit je 1 g Soda und Salpeter in einer Nickelschale zunächst auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft, dann auf kleiner Flamme die Schmelze weiß glüht und in dieser das Chlor maßanalytisch bestimmt. Lassar-Cohn[2]) empfiehlt die letzten Reste Kohle in der Asche unter Zusatz von etwas 3prozentigem Wasserstoffsuperoxyd zu verbrennen.

In Hoppe-Seyler-Thierfelders Handbuch[3]) wird empfohlen, die Veraschung der organischen Substanz in Platinschalen bei beginnender Rotglut vorzunehmen, sobald die Substanz verkohlt ist, die Kohle mit heißem Wasser auszuziehen und die auf einem Filter gesammelte Kohle mit dem Filter zusammen zu veraschen und diesen Vorgang nötigenfalls noch ein- bis mehrmal zu wiederholen, bis eine weiße Asche erhalten ist. Bei der Chlorbestimmung in eiweißhaltigem Harn nach der Veraschungsmethode werden nach dem Verfahren von Neubauer-Salkowski (ebenda S. 572/3) 10 ccm Harn mit 1 g Soda und 2 bis 4 g Salpeter in einer Platinschale zur Trockne verdampft; der Rückstand wird von einer Seite der Schale her beginnend zunächst vorsichtig mit kleiner Flamme und dann allmählich stärker bis zum Schmelzen und Verschwinden der Kohle erhitzt und in der Schmelze das Chlor maßanalytisch nach Mohr bestimmt[4]).

H. Pringsheim[5]) führt die für die Bestimmung der Halogene in festen Substanzen nötigen Veraschungen mit der 16- bis 18fachen Menge Natriumsuperoxyd der zu veraschenden Menge Substanz in einem für diesen Zweck besonders konstruierten eisernen Tiegel aus.

Nach Albu und Neuberg[6]) sind bei der Veraschung organischer chloridhaltiger

---

[1]) Neuberg, Der Harn usw. 1911, I. Teil, S. 54, 64 und 112.

[2]) Lassar-Cohn in Neuberg, Der Harn, 1911, I. Teil, S. 65.

[3]) Hoppe-Seylers Handbuch der physiol. und pathol. chemischen Analyse, 8. Auflage, 1909, S. 537/9.

[4]) In Neubauer-Hupperts Lehrbuch, Analyse des Harns, 11. Auflage, I. Hälfte 1910 (Seite 66, 67 und 80) werden im wesentlichen dieselben Angaben — Veraschen unter intermediärer Extraktion der Kohle mit Wasser und Anführung der Neubauer-Salkowskischen Chlorbestimmungsmethode — gemacht wie in dem vorher genannten Handbuch von Hoppe-Seyler-Thierfelder.

In dem Praktikum von Salkowski (3. Auflage 1906) sowie in Neumeisters Lehrbuch der physiol. Chemie, 2. Auflage, 1897, finden sich, abgesehen von dem Hinweis Salkowskis (S. 281 des Praktikums), die Kohle beim Veraschen organischer Stoffe mit heißem Wasser auszuziehen usw., keine besonderen Anweisungen für die Herstellung von Aschen.

[5]) H. Pringsheim, Über den Gebrauch des Natriumsuperoxyds zur quantitativen Analyse organischer Verbindungen. Berichte d. Deutsch. chemisch. Gesellsch., Jahrgang 41, Bd. III, 1908, S. 4267.

[6]) A. Albu und C. Neuberg, Physiologie und Pathologie des Mineralstoffwechsels 1906, S. 220.

Substanzen, auch wenn diese bei möglichst niedriger Temperatur — dunkler Rotglut — ausgeführt wird, minimale Verluste an Alkalichloriden unvermeidbar, eine Anschauung, die auch durch den Ausfall eigner einschlägiger Versuche (vergl. die Übersicht auf S. 642/43 und die Tabellen 1 bis 5 im Anhang) bestätigt worden ist.

M. Arthus[1]) schützt sich bei dem Veraschen organischer Substanzen gegen Chlorverluste in der Weise, daß er die Substanz mit einem zuerst von Meillère[2]) empfohlenen Zusatz von Calciumnitrat verascht und so neben der für die Bindung der gebildeten Säure nötige Base (CaO) den hierbei aus dem Nitrat freiwerdenden, die Veraschung fördernden Sauerstoff gewinnt.

Strzyzowski[3]) verwendet bei der Veraschung organischer Substanzen zum Zwecke der Chlorbestimmung als basischen Zusatz das Magnesiumoxyd, löst die Asche in einem Überschuß von verdünnter Schwefelsäure und bestimmt in der mit Calciumcarbonat gut abgestumpften Lösung das Chlor maßanalytisch nach Mohr.

Es ist deshalb ohne weiteres zu verstehen, daß man bei der Ermittelung des Chlorgehaltes in der nämlichen organischen Substanz zu ganz verschiedenen Ergebnissen gelangen kann, je nachdem das eine oder andere Veraschungsverfahren angewendet wird. So kamen Nencki und Schoumow-Simanowski[4]) bei ihren Chlorbestimmungen in Organen, Geweben usw. von Hunden zu erheblich niedrigeren Werten als Wahlgren[5]) und Padtberg[6]) bei der Untersuchung gleichartiger Gewebe usw. ihrer eigenen Versuchshunde. Dabei veraschten Nencki und Schoumow-S. die zerkleinerte Trockensubstanz, indem sie sie vorher mit $^1/_{10}$ ihres Gewichts chlorfreiem, pulverigem gebranntem Kalk überschichteten — wodurch, wie sie sagen, die Veraschung wesentlich erleichtert werde[7]) —, kochten die Asche mit heißem Wasser aus und bestimmten in dem Filtrat das Chlor gewichtsanalytisch. Wahlgren und Padtberg hingegen veraschten unter Beachtung der in Hoppe-Seyler-Thierfelders Handbuch angegebenen Vorsichtsmaßregeln in Platinschalen die Trockensubstanz mit Soda und Salpeter und bestimmten das Chlor in dem wässrigen Aschenauszug nach Ansäuern mit Salpetersäure und Neutralisieren mit kohlensaurem Kalk maßanalytisch durch Titration mit einer Silbernitratlösung von bestimmter Konzentration unter Verwendung einer Lösung von neutralem Kaliumchromat als Indikator (Mohrsches Verfahren). Während nun Padtberg in seinen Versuchen in der Muskulatur 0,67, in der Haut 2,40 und in der Leber 1,23 ‰ Chlor feststellen konnte, betragen die von

[1]) Arthus-Starke, Elemente der physiolog. Chemie, 2. Aufl., 1904, S. 5.

[2]) Meillère, Dosage de chlorures dans les produits d'origine organique etc. Journ. de Pharmac. et de Chim. 1894, S. 497. Zitiert nach Strzyzowski a. a. O.

[3]) Strzyzowski, Über ein praktisches Veraschungsverfahren zur Bestimmung von Chlor in tierischen Flüssigkeiten und Organen sowie in Nahrungsmitteln. Oesterr. Chemiker-Ztg. 1903, Nr. 2, S. 25.

[4]) M. Nencki und E. O. Schoumow-Simanowski, Studien über das Chlor und die Halogene im Tierkörper. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 34, 1894, S. 313.

[5]) Wahlgren (unter Magnus' Leitung), Über die Bedeutung der Gewebe als Chlordepots. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol, Bd. 61, 1909, S. 97.

[6]) Padtberg (unter Magnus' Leitung), Über die Bedeutung der Haut als Chlordepot. Ebenda Bd. 63, 1910, S. 60.

[7]) Was nach eigenen Versuchen zutrifft.

Nencki und Schoumow-S. ermittelten Mengen Chlor in dem Muskel nur 0,33, in der Haut 1,45 und in der Leber 0,25‰ Chlor, so daß hiernach die letzteren Autoren Verluste von rund 50, 40 bezw. 80% erlitten haben müssten. Padtberg führt diese ungemein hohen Chlorverluste auf das von Nencki und Schoumow-S. angewendete Veraschungsverfahren zurück und bemerkt dazu, daß das bei der Veraschung organischer Substanzen mit gebranntem Kalk gebildete Calciumchlorid durch das bei der Veraschung ebenfalls entstehende Wasser in Calciumoxychlorid übergeführt und dabei Chlorwasserstoffsäure nach der Formel $CaCl_2 + H_2O = CaClOH + HCl$ entbunden werde. Bei der Nachprüfung dieses Verfahrens habe er bei vergleichsweise mit Rindfleisch ausgeführten Versuchen nach dem eigenen Verfahren 0,080% Chlor, nach demjenigen von Nencki und Schoumow-S. nur 0,013% Chlor erhalten, was einem Verlust von rund 84% entsprechen würde. Er sieht also in der Anwendung von gebranntem Kalk bei der Chlorbestimmung einen grundsätzlichen Fehler.

Gegenüber diesen Angaben Padtbergs sei hier vorweg bemerkt, daß in entsprechenden eigenen, im folgenden näher beschriebenen Versuchen beim Veraschen der mit 1/10 ihres Gewichts gebranntem Kalk überschichteten organischen Substanz nur verhältnismäßig geringe Verluste an Chlor (rund 0,6 bis 5,0%) zu verzeichnen waren und daß auch diese kleinen Verluste vermieden wurden (0,0 bis 0,5%), wenn die organische Substanz mit 1/10 ihres Gewichts gebranntem Kalk und Wasser in dem Veraschungsgefäß mit einem Glasstab zu einem gleichmäßigen Brei angerührt und dieser nach dem Trocknen über einem Pilzbrenner verascht wurde. Ebenso wurden vor der Anwendung des „nassen Verfahrens" der Chlorbestimmung in organischen Substanzen von mir einwandfreie Versuchsergebnisse erhalten, wenn die organische Substanz mit 20% ihres Gewichts gebranntem Kalk zu einem Brei angerührt und nach dem Trocknen verascht wurde, wie dies die zahlreichen, bei der Ausarbeitung des „nassen Verfahrens" der Chlorbestimmung ausgeführten Kontrollanalysen [1]) beweisen.

Im Hinblick auf die Wichtigkeit einer exakten Chlorbestimmung auch für ärztliche Untersuchungen, insbesondere für grundlegende physiologische Untersuchungen, wie die Ermittelung des normalen Chlorgehalts in Geweben usw., erschien es zweckmäßig, durch entsprechende planmäßige Versuche festzustellen, unter welchen Bedingungen bei der Veraschung chlorhaltiger organischer Substanzen Verluste an Chlor ausgeschaltet werden können und welche Arbeitsweise vor jedem Verlust von Chlor sichert.

Als Untersuchungsgegenstände dienten 5 getrocknete und fein gepulverte, auch für die Chlorbestimmung nach dem „nassen Verfahren" geeignete organische Substanzen [2]) von sehr verschiedenem Chlorgehalt, davon 2 mit sehr hohem Chlorgehalt (Trockensubstanz von ungewässertem Seefischrogen mit 35,4% NaCl und ungewässertem Klippfischfleisch mit 34,5% NaCl), 1 mit mittlerem (Trockensubstanz von gewässertem Klippfischfleisch mit 11,6% NaCl), 1 mit niedrigem (Mischung aus Trockensubstanz von fettfreiem Rindfleisch und ungewässertem Rogen mit 1,73%

[1]) Siehe A. Weitzel a. a. O. S. 402.

[2]) Diese bestanden aus Mischungen von Restproben früherer Versuche.

NaCl) und 1 mit sehr niedrigem Chlorgehalt (Trockensubstanz von Rindfleisch mit 0,36 % NaCl, entsprechend etwa 0,09 % NaCl im frischen Fleisch).

Die planmäßigen Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt. Zunächst wurde in den genannten 5 organischen Materialien der Chlorgehalt nach dem „nassen Verfahren" — ohne Veraschung der Materialien —, wobei ein Verlust von Chlor nicht eintritt, ermittelt. Alsdann wurden die gleichen Substanzen nach den folgenden 5, im einzelnen kurz gekennzeichneten Verfahren verascht und in der Aschenlösung das Chlor maßanalytisch bestimmt wie bei dem „nassen Verfahren". Die nach dem „nassen Verfahren" erhaltenen Werte dienten zum Vergleich mit den nach den Veraschungsverfahren ermittelten Zahlenwerten.

Veraschungsverfahren:

1. Veraschung in Platinschalen über der Bunsenflamme ohne besondere Vorsichtsmaßregeln [1]).
2. Veraschung in Quarzschalen bei möglichst niedriger Temperatur über einem Pilzbrenner, Ausziehen der verkohlten, fein zerriebenen Masse auf einem glatt anliegenden Filter mit heißem Wasser, bis das Wasser keine Chlorreaktion mehr zeigt; alsdann Veraschen des Filters nebst Kohle, Lösen der Asche in Salpetersäure und Vereinigen der salpetersauren Lösung mit dem wässerigen Auszug (Gesamtflüssigkeit nicht über 75 ccm, s. später).
3. Veraschung in Platinschalen über einem Pilzbrenner bei möglichst niedriger Temperatur unter den von Nencki und Schoumow-Simanowski angegebenen Vorsichtsmaßregeln: Überschichten der zerkleinerten Trockensubstanz mit etwa $^{1}/_{10}$ ihres Gewichts chlorfreiem, pulverigem Calciumoxyd.
4. Veraschung der mit gebranntem Kalk und Wasser zu einem gleichmäßigen Brei angerührten, auf dem Wasserbad getrockneten Substanz in Platinschalen über einem Pilzbrenner bei möglichst niedriger Temperatur:

   a) mit 10 % CaO Zusatz,
   b) mit 25 % CaO Zusatz.

5. Veraschung mit Soda und Salpeter. 2 g Trockensubstanz wurden mit 6 g Soda Salpetergemisch (hergestellt aus 3 Teilen wasserfreier Soda und 1 Teil Kalisalpeter [2]) zu einem gleichmäßigen Pulver zerrieben und in einer hinreichend geräumigen Platinschale in der Weise verascht, daß zunächst mit sehr kleiner Flamme von einer Seite der Schale her vorsichtig erhitzt wurde. Hierbei verbreitet sich die Verbrennung von einer Stelle aus nach und nach über den

[1]) An der Unzulänglichkeit dieses Verfahrens bestand nicht der geringste Zweifel; es sollte damit nur gezeigt werden, zu welchen hohen Chlorverlusten man bei der Veraschung organischer chlorhaltiger Substanzen ohne Beachtung besonderer Vorsichtsmaßregeln kommen kann.

[2]) Die in dem Soda-Salpetergemisch vorhandene Soda muß, besonders bei der Veraschung sehr chlorreicher Substanzen, stark vorwalten; bei den orientierenden Vorversuchen, die mit Soda-Salpetergemisch 1 : 1, 3 : 2 und 2 : 1 ausgeführt waren, wurden zu niedrige Chlorwerte gefunden.

ganzen Inhalt der Schale, wodurch ein Verspritzen des Inhalts vermieden wird. Dann wurde mit allmählich verstärkter Flamme die Masse zum Schmelzen gebracht und die noch vorhandene Kohle nach dem Aufstreuen von einigen kleinen Messerspitzen gepulverten Kalisalpeters vollends verbrannt.

Der Verwendung von Quarzschalen beim Veraschungsverfahren 2 wurde der Vorzug gegeben, weil hierbei die organische Substanz ohne jeden Zusatz von Alkali bei möglichst niedriger Temperatur, um ein Verflüchtigen von Alkalichloriden usw. auszuschließen, verascht werden sollte. Dies ist in Quarzgefäßen um so eher möglich, als in ihnen, besonders bei Benutzung eines Pilzbrenners, die Verbrennungstemperatur dauernd gleichmäßig und bequemer auf der erforderlichen niedrigen Höhe gehalten werden kann, als in Platingefäßen. Bei der Veraschung der organischen Substanz unter Zusatz von Alkali (Verfahren 3—4) kann dies auch in Platingefäßen geschehen, da durch den Alkalizusatz einem etwaigen Chlorverlust vorgebeugt wird und außerdem auch die Veraschung in kürzerer Zeit ausführbar ist. Erfolgt die Veraschung der organischen Substanz unter Zusatz von Soda-Salpetergemisch, so geschieht dies besser in Platinschalen, weil hier das Endprodukt zum Schmelzen kommt, ein Prozeß, der in diesen Schalen leichter und schneller als in Quarzschalen vor sich geht. In Ermangelung von Platinschalen und mit Rücksicht auf den derzeitigen äußerst hohen Preis für Platin, sowie ferner darauf, daß die Schalen durch den Schmelzprozeß möglicherweise etwas angegriffen werden können, findet sich ein Ausweg in der Verwendung von Nickelschalen, die bereits von S. Fränkel in Neubergs Handbuch „Der Harn" (1911, I. Teil, S. 112) für die Herstellung von Harnaschen empfohlen worden sind und auch im physiologisch pharmakologischen Laboratorium des Reichsgesundheitsamtes bei der Bestimmung des Gesamtschwefels im Harn mit gutem Erfolg benutzt wurden[1]). Schließlich kann nach der oben angeführten speziellen Methode von H. Pringsheim die Veraschung organischer Substanzen in besonders konstruierten eisernen Tiegeln geschehen.

Für die maßanalytische Bestimmung des Chlors wurden die Aschen in 25%-iger Salpetersäure gelöst und dabei die stark sauren Lösungen der Aschen mit nur geringem oder sehr geringem Chlorgehalt in ihren Gesamtmengen verwendet, während, wie unten näher angegeben ist, von den Aschenlösungen mit mittlerem und hohem Chlorgehalt nur ein aliquoter Teil zur Titration gelangte. Zu der gesamten sauren Lösung der Fleischasche wurden 10 ccm, zu derjenigen der Asche aus der Mischung von Fleisch und Rogen 20 ccm einer Silbernitratlösung, von der 1 ccm 0,005 g Natriumchlorid entsprach, hinzugefügt, beide 15 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt, nach dem Erkalten mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt und durch ein Faltenfilter filtriert. Zu 50 ccm des Filtrates wurde nach Zusatz von 2 ccm einer gesättigten wässerigen mit Salpesersäure bis zum Verschwinden der braunen Farbe versetzten Ferriammoniumsulfatlösung das überschüssige Silbernitrat mit einer auf die Silberitratlösung genau eingestellten Rhodanammoniumlösung zurücktitriert (Volhard-

[1]) Vergl. hierzu diese Arbeiten Bd. 21, 1904, S. 285: G. Sonntag, Beiträge zur Kenntnis der Ausscheidung von neutralem schwefligsaurem Natrium und aldehydschwefligsaurem Natrium beim Hunde.

sches Verfahren), wobei die Titration als beendigt galt, sobald der erste Tropfen den dauernden Umschlag nach Rot ergab. Aus der verbrauchten Anzahl ccm Silbernitratlösung wurde dann der Chlorgehalt auf Natriumchlorid berechnet.

Die Aschenlösungen der Substanzen mit mittlerem und hohem Chlorgehalt wurden mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt und hiervon je 20 ccm nach Zusatz von 20 ccm Silbernitratlösung usw. in der angegebenen Weise zur Chlorbestimmung benutzt.

Die Analysenergebnisse sind im einzelnen für jede Substanz auf besonderer Tabelle im Anhang zusammengestellt, die nachfolgende Zusammenstellung gibt eine Übersicht des Gesamtergebnisses.

Als Gradmesser für die Brauchbarkeit der verschiedenen Veraschungsverfahren dienten die bei den einzelnen Verfahren etwa entstandenen Verluste an Chlornatrium, gemessen an den nach dem „nassen Verfahren" erhaltenen entsprechenden Werten.

Ein Blick auf die Übersicht zeigt, daß bei Benutzung des — von vornherein als unzureichend betrachteten — Verfahrens, die organische Substanz ohne besondere Vorsicht in Platinschalen bei Rotglut zu veraschen, sehr große Verluste an Chlor (bis zu 70%) entstanden. Erheblich niedriger (abgesehen von einem Fall), aber verhältnismäßig immer noch sehr hoch waren die Chlorverluste, wenn nach dem nächstfolgenden Verfahren (vergl. Übersicht II, 2) die Veraschung vorgenommen wurde. Wie dies in der Natur der Sache liegt, fielen die verhältnismäßig höchsten Chlorverluste bei beiden Verfahren auf die chlorarmen Substanzen: auf Rindfleisch rund 70,0 und 28,5%, auf die Mischung von Rindfleisch und ungewässertem Rogen 32,6 und 22,6%, während bei den drei chlorreichen Substanzen die Chlorverluste erheblich geringer waren und bei dem Verfahren II, 1 sich auf 8,7 bis 9,8%, bei dem Verfahren II, 2 auf 0,9 bis 9,6% beliefen.

Hiernach ist selbst das Verfahren der Veraschung mit den Vorsichtsmaßregeln der Nr. II, 2 wegen der damit verbundenen hohen Verluste von Chlor ohne weiteres als unbrauchbar auszuschalten.

Das Hauptinteresse fiel der Beantwortung der Frage zu, ob eine Veraschung mit Kalk oder mit Soda und Salpeter jeden Chlorverlust vermeiden läßt.

Bei der von Nencki und Schoumow-Simanowski[1]) angewendeten Vorsicht, die völlig getrocknete organische Substanz nach dem einfachen Aufstreuen von 10% ihres Gewichts pulverigem, chlorfreiem gebranntem Kalk zu veraschen[2]), konnten bei der Veraschung in Platinschalen über einem Pilzbrenner bei möglichst niedriger Temperatur die Chlorverluste zwar nicht völlig ausgeschaltet, wohl aber auf ein geringes Maß herabgedrückt werden; sie betrugen im Durchschnitt, wie die Übersicht zeigt, nur noch 0,6 bis 5,0% und waren auch hier bei der Veraschung der chlorarmen Substanzen relativ höher (3,8 bis 5,0%) als bei den chlorreichen (0,6 bis 3,0%). Die von Padtberg[3]) dem Nencki und Schoumow-Simanowskischen Verfahren zur Last gelegten Chlorverluste, die, wie dies schon oben ausgeführt ist, bis zu 84,0%

[1]) a. a. O.

[2]) Über die Art der von ihnen benutzten Veraschungsgefäße sind von den Autoren Angaben nicht gemacht worden.

[3]) a. a. O.

Über-

Die für 100 g Substanz durch Titration ermittelten Durchschnittswerte für gegenüber dem nassen Verfahren erhaltenen Unterschiede

Angewendetes Verfahren zur Vorbereitung des Materials für die Titration	— 1 — Natriumchlorid in 100 g Trockensubstanz				
	Ungewässerter Rogen g	Ungewässertes Klippfischfleisch g	Gewässertes Klippfischfleisch g	Mischung aus Rindfleisch u. ungew. Rogen g	Rindfleisch g
I. Nasses Verfahren (Aufschließung durch Kalilauge oder Salpetersäure).	35,40	34,50	11,60	1,733	0,358
II. Veraschungsverfahren					
1. In Platinschalen ohne besondere Vorsichtsmaßregeln	32,33	31,50	10,46	1,167	0,107
2. In Quarzschalen mit gewissen Vorsichtsmaßregeln	32,00	32,88	11,50	1,342	0,256
3. Nach Nencki u. Sch.-S. mit 10 % CaO und zwar in Platinschalen[1])	34,38	34,17	11,53	1,667	0,340
4. Substanz mit Kalk und Wasser zum Brei angerührt, getrocknet und in Platinschalen verascht					
a) mit 10 % CaO-Zusatz	35,33	34,33	11,57	1,733	0,363
b) mit 25 % CaO-Zusatz	35,50	34,33	11,63	1,733	0,354
5. Mit der dreifachen Menge Soda-Salpetergemisch (3 Teile Soda : 1 Teil Salpeter) in Platinschalen	35,25	34,38	11,67	1,718	0,358

betragen, stehen somit im Widerspruch zu den vorliegenden Versuchsergebnissen. Durchaus brauchbare Resultate wurden mit der Methode erzielt, wenn der im physiologisch-pharmakologischen Laboratorium des Reichsgesundheitsamts seit langem benutzte Handgriff, nämlich den gebrannten Kalk nicht einfach auf die zu veraschende Substanz aufzustreuen, sondern beide mit Wasser zu einem gleichmäßigen Brei anzurühren und nach dem Trocknen zu veraschen, angewendet wurde. Dabei traten bei den beiden chlorarmen Substanzen überhaupt keine Verluste ein und in den anderen drei Fällen waren sie so niedrig (0,20 bis 0.49 %), daß sie innerhalb der unvermeidlichen Analysenfehlergrenzen liegen und deshalb praktisch belanglos sind (vergl. Übersicht II, 4a). Analog diesem Verfahren, die Substanz mit 10 % CaO-Zusatz und Wasser zu einem Brei anzurühren usw. wurden noch Versuche mit 25 % CaO-Zusatz,

[1]) Vergl. hierzu Tabelle 1 im Anhang.

sicht.

Natriumchlorid (Spalte 1), die hierbei nach dem jeweiligen Veraschungsverfahren (Spalte 2) und Verluste in $^{0}/_{0}$ Natriumchlorid (Spalte 3).

— 2 — Unterschiede auf 100 g Trockensubstanz					— 3 — Verluste in $^{0}/_{0}$ Natriumchlorid				
Ungewässerter Rogen g	Ungewässertes Klippfischfleisch g	Gewässertes Klippfischfleisch g	Mischung aus Rindfleisch u. ungew. Rogen g	Rindfleisch g	Ungewässerter Rogen	Ungewässertes Klippfischfleisch	Gewässertes Klippfischfleisch	Mischung aus Rindfleisch u. ungew. Rogen	Rindfleisch
— 3,070	— 3,000	— 1,140	— 0,566	— 0,251	8,67	8,70	9,83	32,66	70,11
— 3,400	— 1,620	— 0,100	— 0,391	— 0,102	9,60	4,70	0,86	22,56	28,49
— 1,070	— 0,330	— 0,070	— 0,066	— 0,018	3,02	0,96	0,60	3,81	5,03
— 0,070	— 0,170	— 0,030	± 0	+ 0,005	0,20	0,49	0,26	0	0
+ 0,100	— 0,170	+ 0,030	± 0	— 0,004	0	0,49	0	0	1,12
— 0,150	— 0,120	+ 0,070	— 0,020	± 0	0,42	0,35	0	1,15	0

um für alle Fälle eine hinreichende Menge Basen für die Bindung der beim Veraschen unter Umständen gebildeten Mineralsäuren (Schwefelsäure und Phosphorsäure) zur Verfügung zu haben, angestellt. Die Versuchsergebnisse waren auch hierbei einwandfrei; in drei Fällen traten überhaupt keine Verluste ein, in zwei Fällen betrugen sie nur 0,5 bis 1,0% (vergl. Übersicht II, 4b). Die Veraschung der mit Kalk und Wasser zu einem Brei angerührten Substanz hat auch noch den besonderen Vorteil, daß sie sich ruhig und gleichmäßig vollzieht; die hierzu nötige Zeit ist verhältnismäßig kurz.

Das zuletzt ausprobierte Verfahren (vergl. Übersicht II, 5), die Veraschung der organischen Substanz mit Soda und Salpeter in den oben angegebenen Mengenverhältnissen, wurde unter den schon erwähnten Vorsichtsmaßregeln (vorsichtiges Erhitzen von einer Seite der Schale her usw.) ausgeführt, um eine zu heftige und plötzliche Oxy-

dation hintanzuhalten und so ein Verspritzen von Teilchen der zu veraschenden Masse zu vermeiden. Dieses Verfahren stellt eine Art Schnellverfahren dar. Die Veraschungen waren in etwa 10 Minuten beendigt und die dabei erzielten Ergebnisse einwandfrei; in zwei Fällen verlief das Veraschen ohne Verlust von Chlor, in drei Fällen betrugen die Verluste 0,35 bis 1,15%, sie lagen also noch innerhalb der unvermeidlichen Analysenfehlergrenzen.

Ergebnis.

1. Das Chlor organischer Materialien kann ebenso wie in der nach dem „nassen Verfahren" durch Kalilauge (10%) oder Salpetersäure (25%) aufgeschlossenen verflüssigten Substanz — sofern die Natur des organischen Materials die Verflüssigung zuläßt — so auch in der veraschten Substanz in allen Fällen ohne Rücksicht auf das Material einwandfrei quantitativ maßanalytisch bestimmt werden, wenn bestimmte Vorsichtsmaßregeln bei dem Veraschen eingehalten werden. Dabei ist der Zerstörung auf nassem Wege wegen der schnellen und bequemen Ausführbarkeit auch bei Materialien mit sehr geringem Chlorgehalt der Vorzug zu geben.

2. Von den geprüften Veraschungsverfahren scheiden die unter II, 1—3 in den Tabellen aufgeführten Verfahren als unbrauchbar oder nicht völlig verläßlich aus. Die ebenda unter II, 4—5 genannten Verfahren liefern dagegen jedes einwandfreie Ergebnisse, doch ist die Veraschung der organischen Substanz nach ihrem Anrühren mit einer genügend hohen Alkalimenge (25% ihres Gewichts gebranntem Kalk) zu einem Brei und Veraschen des getrockneten Breis über einem Pilzbrenner zu bevorzugen, weil sich die Veraschung in dem getrockneten Brei bei ruhigem Durchglimmen der Masse durchaus gleichmäßig und ohne Verspritzen von Aschenteilchen vollzieht.

3. Mit letztgenanntem Übelstand ist immerhin bei der Veraschung mit Soda-Salpetergemisch (Verhältnis 3 : 1) zu rechnen, die im übrigen aber ebenso exakt im Einzelfalle ausgeführt werden kann und der schnellen Ausführbarkeit wegen unter Umständen sich empfiehlt.

Anhang.

Tabelle 1.

Chlorgehalt, titrimetrisch als Natriumchlorid in dem nach verschiedenen Verfahren **veraschten** oder **auf nassem Wege aufgeschlossenen** Material ermittelt.

Material mit sehr hohem Chlorgehalt.

(Trockensubstanz von ungewässertem, gesalzenem Seefischrogen.)

Verfahren zur Herrichtung des Materials für die Titration	Zur Analyse verwendete Menge Trockensubstanz	Natriumchlorid		Untersch. zwischen den nach dem nassen (I) u. den Veraschungsvorf. (II) erhalt. Werten		Chlorverluste in % Natriumchlorid
		in der angew. Menge Trockensubstanz	In 100 g Trockensubstanz	bei der angewendeten Menge Trockensubstanz	bei 100 g Trockensubstanz	
	g	g	g	g	g	
I. Nasses Verfahren. (Aufschließung durch Kalilauge.)	2,0	0,700	35,00			
	2,0	0,715	35,75			
	2,0	0,710	35,50			
	2,0	0,710	35,50			
	2,0	0,705	35,25			
	Im Mittel	**0,708**	**35,40**			
II. Veraschungsverfahren. 1. In Platinschalen ohne besond. Vorsichtsmaßregeln.	2,0	0,640	32,00			
	2,0	0,645	32,25			
	2,0	0,655	32,75			
	Im Mittel	**0,647**	**32,33**	**— 0,061**	**— 3,07**	**8,67**
2. In Quarzschalen mit gewissen Vorsichtsmaßregeln (Siehe S. 639.)	2,0	0,640	32,00			
	2,0	0,640	32,00			
	2,0	0,650	32,50			
	2,0	0,630	31,50			
	Im Mittel	**0,640**	**32,00**	**— 0,068**	**— 3,40**	**9,60**
3. Nach Nencki u. Schoumow-Simanowski[1]) mit 10% CaO und zwar in Platinschalen	2,0	0,685	34,25			
	2,0	0,695	34,75			
	2,0	0,680	34,00			
	Im Mittel	**0,687**	**34,33**	**— 0,021**	**— 1,07**	**3,02**
4. Substanz m. Kalk u. Wasser, z. Brei angerührt, getrocknet und in Platinschalen verascht.	2,0	0,710	35,50			
	2,0	0,710	35,50			
	2,0	0,700	35,00			
a) mit 10% CaO-Zusatz.	Im Mittel	**0,707**	**35,33**	**— 0,001**	**— 0,07**	**0,20**
b) mit 25% CaO-Zusatz.	2,0	0,705	35,25			
	2,0	0,715	35,75			
	2,0	0,710	35,50			
	Im Mittel	**0,710**	**35,50**	**+ 0,002**	**+ 0,10**	**0**
5. Mit der dreifachen Menge Soda-Salpetergemisch (3 Teile Soda: 1 Teil Salpeter) in Platinschalen.	2,0	0,700	35,00			
	2,0	0,705	35,25			
	2,0	7,710	35,50			
	Im Mittel	**0,705**	**35,25**	**— 0,003**	**— 0,15**	**0,42**

[1]) Über die Art der benutzten Veraschungsgefäße wird nichts gesagt. Hier in den eigenen Versuchen wurden Platinschalen verwendet.

Tabelle 2.

Chlorgehalt, titrimetrisch als Natriumchlorid in dem nach verschiedenen Verfahren **veraschten** oder auf **nassem Wege aufgeschlossenen** Material ermittelt.

Material mit sehr hohem Chlorgehalt.

(Trockensubstanz von ungewässertem, gesalzenem Klippfischfleisch.)

Verfahren zur Herrichtung des Materials für die Titration	Zur Analyse verwendete Menge Trockensubstanz g	Natriumchlorid in der angew. Menge Trockensubstanz g	Natriumchlorid in 100 g Trockensubstanz g	Untersch. zwischen den nach dem nassen (I) u. den Veraschungsverf. (II) erhalt. Werten: bei der angewendeten Menge Trockensubstanz g	Untersch. zwischen den nach dem nassen (I) u. den Veraschungsverf. (II) erhalt. Werten: bei 100 g Trockensubstanz g	Chlorverluste in % Natriumchlorid
I. Nasses Verfahren. (Aufschließung durch Kalilauge.)	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,680	34,00			
	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,700	35,00			
	Im Mittel	**0,690**	**34,50**			
II. Veraschungsverahren						
1. In Platinschalen ohne besond. Vorsichtsmaßregeln.	2,0	0,635	31,75			
	2,0	0,660	33,00			
	2,0	0,605	30,25			
	2,0	0,620	31,00			
	Im Mittel	**0,630**	**31,50**	**— 0,060**	**— 3,00**	**8,70**
2. In Quarzschalen mit gewissen Vorsichtsmaßregeln (Siehe S. 639.)	2,0	0,665	33,25			
	2,0	0,665	33,25			
	2,0	0,650	32,50			
	2,0	0,650	32,50			
	Im Mittel	**0,658**	**32,88**	**— 0,032**	**— 1,62**	**4,70**
3. Nach Nencki u. Schoumow-Simanowski mit 10% CaO und zwar in Platinschalen.	2,0	0,685	34,25			
	2,0	0,675	33,75			
	2,0	0,690	34,50			
	Im Mittel	**0,683**	**34,17**	**— 0,007**	**— 0,33**	**0,96**
4. Substanz m. Kalk u. Wasser, z. Brei angerührt, getrocknet und in Platinschalen verascht.	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,680	34,00			
	2,0	0,690	34,50			
a) mit 10% CaO Zusatz.	Im Mittel	**0,687**	**34,33**	**— 0,003**	**— 0,17**	**0,49**
b) mit 25% CaO-Zusatz.	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,680	34,00			
	2,0	0,690	34,50			
	Im Mittel	**0,687**	**34,33**	**— 0,003**	**— 0,17**	**0,49**
5. Mit der dreifachen Menge Soda Salpetergemisch (3 Teile Soda : 1 Teil Salpeter) in Platinschalen.	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,690	34,50			
	2,0	0,680	34,00			
	Im Mittel	**0,688**	**34,38**	**— 0,002**	**— 0,12**	**0,35**

Tabelle 3.

Chlorgehalt, titrimetrisch als Natriumchlorid in dem nach verschiedenen Verfahren **veraschten** oder **auf nassem Wege aufgeschlossenen** Material ermittelt.

Material mit mittlerem Chlorgehalt.

(Trockensubstanz von gewässertem, gesalzenem Klippfischfleisch.)

Verfahren zur Herrichtung des Materials für die Titration	Zur Analyse verwendete Menge Trockensubstanz g	Natriumchlorid in der angew. Menge Trockensubstanz g	Natriumchlorid in 100 g Trockensubstanz g	Untersch. zwischen den nach dem nassen (I) u. den Veraschungsverf. (II) erhalt. Werten: bei der angewendeten Menge Trockensubstanz g	Untersch.: bei 100 g Trockensubstanz g	Chlorverluste in % Natriumchlorid
I. Nasses Verfahren. (Aufschließung durch Kalilauge.)	5,0	0,580	11,60			
	5,0	0,580	11,60			
	5,0	0,575	11,50			
	5,0	0,575	11,50			
	5,0	0,590	11,80			
	Im Mittel	**0,580**	**11,60**			
II. Veraschungsverfahren. 1. In Platinschalen ohne besond. Vorsichtsmaßregeln.	5,0	0,535	10,70			
	5,0	0,475	9,50			
	5,0	0,560	11,20			
	Im Mittel	**0,523**	**10,46**	**— 0,057**	**— 1,14**	**9,83**
2. In Quarzschalen mit gewissen Vorsichtsmaßregeln. (Siehe S. 639.)	2,0	0,230	11,50			
	2,0	0,240	12,00			
	2,0	0,220	11,00			
	2,0	0,230	11,50			
	Im Mittel	**0,230**	**11,50**	**— 0,005**	**— 0,10**	**0,86**
3. Nach Nencki u. Schoumow-Simanowski mit 10% CaO und zwar in Platinschalen.	5,0	0,585	11,70			
	5,0	0,570	11,40			
	5,0	0,575	11,50			
	Im Mittel	**0,577**	**11,53**	**— 0,003**	**— 0,07**	**0,60**
4. Substanz m. Kalk u. Wasser, z. Brei angerührt, getrocknet und in Platinschalen verascht. a) mit 10% CaO-Zusatz.	5,0	0,575	11,50			
	5,0	0,580	11,60			
	5,0	0,580	11,60			
	Im Mittel	**0,578**	**11,57**	**— 0,002**	**— 0,03**	**0,26**
b) mit 25% CaO-Zusatz.	5,0	0,575	11,50			
	5,0	0,580	11,60			
	5,0	0,590	11,80			
	Im Mittel	**0,582**	**11,63**	**+ 0,002**	**+ 0,03**	**0**
5. Mit der dreifachen Menge Soda Salpetergemisch (3 Teile Soda : 1 Teil Salpeter) in Platinschalen.	2,0	0,235	11,75			
	2,0	0,235	11,75			
	2,0	0,230	11,50			
	Im Mittel	**0,233**	**11,67**	**+ 0,002**	**+ 0,07**	**0**

Tabelle 4.

Chlorgehalt, titrimetrisch als Natriumchlorid in dem nach verschiedenen Verfahren **veraschten** oder auf **nassem Wege aufgeschlossenen** Material ermittelt.

Material mit niedrigem Chlorgehalt.

Mischung aus Trockensubstanz von Rindfleisch und ungewässertem, gesalzenem Seefischrogen.)

Verfahren zur Herrichtung des Materials für die Titration	Zur Analyse verwendete Menge Trockensubstanz	Natriumchlorid		Untersch. zwischen dem nach dem nassen (I) u. den Veraschungsverf. (II) erhalt. Werten		Chlorverluste in % Natriumchlorid
		in der angew. Menge Trockensubstanz	in 100 g Trockensubstanz	bei der angewendeten Menge Trockensubstanz	bei 100 g Trockensubstanz	
	g	g	g	g	g	
I. Nasses Verfahren. (Aufschließung durch Kalilauge.)	5,0	0,085	1,700			
	5,0	0,090	1,800			
	5,0	0,085	1,700			
	Im Mittel	0,087	1,733			
II. Veraschungsverfahren. 1. In Platinschalen ohne besond. Vorsichtsmaßregeln.	5,0	0,065	1,300			
	5,0	0,060	1,200			
	5,0	0,050	1,000			
	Im Mittel	0,058	1,167	— 0,029	— 0,566	32,66
2. In Quarzschalen mit gewissen Vorsichtsmaßregeln. (Siehe S. 639.)	2,0	0,0275 [1]	1,375			
	2,0	0,0290	1,450			
	2,0	0,0235	1,175			
	2,0	0,0275	1,375			
	Im Mittel	0,0268	1,342	— 0,020	— 0,391	22,56
3. Nach Nencki u. Schoumow-Simanowski mit 10% CaO und zwar in Platinschalen.	5,0	0,085	1,700			
	5,0	0,080	1,600			
	5,0	0,085	1,700			
	Im Mittel	0,083	1,667	— 0,004	— 0,066	3,81
4. Substanz m. Kalk u. Wasser z. Brei angerührt, getrocknet und in Platinschalen verascht. a) mit 10% CaO-Zusatz.	5,0	0,090	1,800			
	5,0	0,085	1,700			
	5,0	0,085	1,700			
	Im Mittel	0,087	1,733	0	0	0
b) mit 25% CaO-Zusatz.	5,0	0,090	1,800			
	5,0	0,085	1,700			
	5,0	0,085	1,700			
	Im Mittel	0,087	1,733	0	0	0
5. Mit der dreifachen Menge Soda-Salpetergemisch (3 Teile Soda: 1 Teil Salpeter) in Platinschalen.	2,0	0,0345 [1]	1,725			
	2,0	0,0340	1,700			
	2,0	0,0340	1,700			
	2,0	0,0345	1,725			
	Im Mittel	0,0343	1,713	— 0,008	— 0,020	1,15

[1]) Die Analysenzahlen sind hier absichtlich bis zur 4. Dezimale angegeben mit Rücksicht auf den niedrigen Chlorgehalt des Untersuchungsmaterials und auf die geringe Menge der Analysenprobe.

Tabelle 5.

Chlorgehalt, titrimetrisch als Natriumchlorid in dem nach verschiedenen Verfahren **veraschten** oder auf **nassem Wege aufgeschlossenen** Material ermittelt.

Material mit sehr niedrigem Chlorgehalt.
(Trockensubstanz von Rindfleisch.)

Verfahren zur Herrichtung des Materials für die Titration	Zur Analyse verwendete Menge Trockensubstanz g	Natriumchlorid: in der angew. Menge Trockensubstanz g	Natriumchlorid: in 100 g Trockensubstanz g	Untersch. zwischen den nach dem nassen (I) u. den Veraschungsverf. (II) erh. Werten: bei der angewendeten Menge Trockensubstanz g	Untersch. zwischen den nach dem nassen (I) u. den Veraschungsverf. (II) erh. Werten: bei 100 g Trockensubstanz g	Chlorverluste in % Natriumchlorid
I. Nasses Verfahren. (Aufschließung durch Salpetersäure.)	5,0	0,0170 [1]	0,340			
	5,0	0,0180	0,360			
	5,0	0,0170	0,340			
	5,0	0,0180	0,360			
	5,0	0,0195	0,390			
	Im Mittel	**0,0179**	**0,358**			
II. Veraschungsverfahren. 1. In Platinschalen ohne besond. Vorsichtsmaßregeln.	5,0	0,0050	0,100			
	5,0	0,0055	0,110			
	5,0	0,0055	0,110			
	Im Mittel	**0,0053**	**0,107**	**— 0,0126**	**— 0,251**	**70,11**
2. In Quarzschalen mit gewissen Vorsichtsmaßregeln. (Siehe S. 639.)	2,0	0,0040	0,200			
	2,0	0,0060	0,300			
	2,0	0,0050	0,250			
	2,0	0,0055	0,275			
	Im Mittel	**0,0051**	**0,256**	**— 0,0052**	**— 0,102**	**28,49**
3. Nach Nencki u. Schoumow-Simanowski mit 10% CaO und zwar in Platinschalen.	5,0	0,0175	0,350			
	5,0	0,0165	0,330			
	5,0	0,0170	0,370			
	Im Mittel	**0,0170**	**0,340**	**— 0,0009**	**— 0,018**	**5,03**
4. Substanz m. Kalk u. Wasser z. Brei angerührt, getrocknet und in Platinschalen verascht. a) mit 10% CaO Zusatz.	5,0	0,0175	0,350			
	5,0	0,0185	0,370			
	5,0	0,0185	0,370			
	Im Mittel	**0,0182**	**0,363**	**+ 0,0003**	**+ 0,005**	**0**
b) mit 25% CaO-Zusatz.	5,0	0,0200	0,400			
	5,0	0,0150	0,300			
	5,0	0,0175	0,350			
	5,0	0,0185	0,370			
	5,0	0,0175	0,350			
	Im Mittel	**0,0177**	**0,354**	**— 0,0002**	**— 0,004**	**1,12**
5. Mit der dreifachen Menge Soda - Salpetergemisch (3 Teile Soda : 1 Teil Salpeter) in Platinschalen.	2,0	0,0075	0,375			
	2,0	0,0070	0,350			
	2,0	0,0070	0,350			
	Im Mittel	**0,0072**	**0,358**	**0**	**0**	**0**

[1]) Die Analysenzahlen sind hier absichtlich bis zur 4. Dezimale angegeben mit Rücksicht auf den sehr niedrigen Chlorgehalt des Untersuchungsmaterials und auf die geringe Menge der Analysenprobe.

Berlin, physiologisch-pharmakologisches Laboratorium des Reichsgesundheitsamts, März 1920.

Beitrag zur Untersuchung und Beurteilung von Kunsthonig.

Von

Dr. Georg Borries,

Regierungsrat im Reichsgesundheitsamte.

Für Kunsthonig, der zweifellos zu den Ersatzlebensmitteln gerechnet werden muß, waren in der Bekanntmachung von Grundsätzen für die Erteilung und Versagung der Genehmigung von Ersatzlebensmitteln vom 8. April 1918[1]) Richtlinien noch nicht aufgestellt worden. Dagegen war durch die Bekanntmachung über Kunsthonig vom 14. November 1916[2]) bezüglich der Beschaffenheit dieses Erzeugnisses vorgeschrieben worden, daß es nur in fester Form (schnittfest) hergestellt werden dürfe. Die an die Stelle dieser Bekanntmachung getretene Verordnung vom 7. Dezember 1917[3]) enthält bezüglich der Beschaffenheit des Kunsthonigs dieselbe Vorschrift.

Klagen über die zu flüssige Beschaffenheit des im Verkehr angetroffenen Kunsthonigs gaben dazu Veranlassung, die Frage der an Kunsthonig zu stellenden Anforderungen nachzuprüfen. Die zu geringe Festigkeit des Erzeugnisses kann einerseits durch zu hohen Gehalt an Wasser, anderseits durch zu hohen Rohrzuckergehalt verursacht werden. Nach Behre und Ehrecke[4]) werden Kunsthonige, deren Wassergehalt 20% nicht wesentlich überschreitet und deren Rohrzuckergehalt etwa 10% beträgt, die gewünschte Schnittfestigkeit besitzen; höherer Rohrzuckergehalt — bei gleichem Wassergehalt — verhindert das Festwerden des Kunsthonigs; nur bei gleichzeitig niedrigerem Wassergehalt werden auch bei höherem Rohrzuckergehalt noch schnittfeste Erzeugnisse erhalten, z. B. bei 17% Wasser und 15% Rohrzucker. Bei mehr als 20% Rohrzucker soll völlige Schnittfestigkeit überhaupt nicht oder erst nach längerem Aufbewahren eintreten.

Die Reichszuckerstelle hatte die Freigabe von Zucker zur Herstellung von Kunsthonig von der Bedingung abhängig gemacht, daß aus 100 Teilen Rohrzucker 125 Teile Kunsthonig angefertigt würden. Bei der Berechnung, wieviel Prozent Wasser ein unter dieser Bedingung bereiteter Kunsthonig enthält, sind folgende Gesichtspunkte zu beachten. Aus 100 g chemisch reinem Rohrzucker entstehen bei der vollständigen

[1]) Veröff. d. Reichsgesundheitsamts 1918, S. 211.

[2]) Desgl. 1916, S. 707.

[3]) Desgl. 1918, S. 43.

[4]) Chem. Ztg. **43** (1919), S. 153.

Inversion, d. h. bei Umwandlung des gesamten Rohrzuckers in Invertzucker, infolge von Wasserbindung 105,3 g Invertzucker. Zur Herstellung des Kunsthonigs wird aber nicht immer der reinste Rohrzucker verwendet. Nimmt man, um einen gewissen Spielraum zu haben, an, daß der benutzte Zucker bis zu 1 % Feuchtigkeit und bis zu 1 % feste Nichtzuckerstoffe enthält, und berücksichtigt man weiter, daß von dem zugeteilten Zucker etwa 2 % auf Sackgewicht und Verlust abzurechnen sind, so kommen für die Umwandlung in Kunsthonig nur 96 kg des Zuckerrohgewichtes von 100 kg und, wenn im fertigen Kunsthonig noch 10% Rohrzucker, also in den abzuliefernden 125 kg 12,5 kg Rohrzucker unverändert enthalten sein dürfen, für die Inversion 83,5 kg Rohrzucker in Betracht, aus denen 87,9 kg Invertzucker werden. Die 125 kg Kunsthonig würden also 87,9 kg Invertzucker, 12,5 kg Rohrzucker und 1 kg Nichtzuckerstoffe, im ganzen 101,4 kg Trockenmasse = 81,1% oder 18,9% Wasser enthalten. Eine so niedrige Grenze für den Wassergehalt wird man nicht zu fordern brauchen. Aus Kreisen der Kunsthonigfabrikanten ist auf Grund jahrelanger Erfahrungen bei der Herstellung des Kunsthonigs und auf Grund der Untersuchungsergebnisse einer großen Anzahl im eigenen Betriebe hergestellter Kunsthonige vorgeschlagen worden, eine Ware herzustellen, die je nach der Jahreszeit zwischen 19,5 und 22 % Wasser, also 78—80,5% Trockenmasse enthält.

Der Gehalt an Trockenmasse ist auch bei Verwendung von reinem Rohrzucker nicht gleichbedeutend mit dem Gesamtzuckergehalt. Abgesehen von den bereits im Rohrzucker enthaltenen und daraus in den Kunsthonig übergehenden Nichtzuckerstoffen entsteht nach Beobachtung verschiedener Kunsthonigfabrikanten und Nahrungsmittelchemiker auch bei einwandfreier Herstellungsweise von Kunsthonig durch Erhitzen des Rohrzuckers in konzentrierter Lösung mit Säuren eine nicht unbeträchtliche Menge von Nichtzuckerstoffen, die offenbar je nach der Art der Herstellung in gewissen Grenzen schwankt. Darüber, ob diese Nichtzuckerstoffe infolge Zerstörung der Fructose entstehen, oder ob — wie Wohl[1]) annimmt — die Inversion von rückläufigen Kondensationsprozessen (Reversion) begleitet und die Fructose in dextrinartige Produkte verwandelt wird, gehen die Ansichten auseinander.

Zu der im verwendeten Rohrzucker enthaltenen Menge an Nichtzuckerstoffen kommen somit noch die bei der Inversion gebildeten. Dem Reichsgesundheitsamte ist aus den Laboratorien der Kunsthonigfabriken eine große Anzahl Untersuchungen von Kunsthonigen mitgeteilt worden, deren Gehalt an Nichtzucker sehr erheblich war. Von einer Seite wurde als Durchschnitt für den Gehalt an Nichtzucker in 100 verschiedenen Kunsthonigen sogar 6,4% angegeben.

Um nachzuprüfen, wie hoch der Gehalt an Nichtzuckerstoffen in einigen derzeit hergestellten Kunsthonigen ist, wurde eine Anzahl von Proben aus verschiedenen Fabriken untersucht. Zu diesem Zwecke mußte der Gehalt an Invertzucker (vor und nach der Inversion der Probe) und an Trockenrückstand (Trockenmasse) mit möglichst großer Genauigkeit bestimmt werden, weil sich der Gehalt an Rohrzucker und der an Nichtzuckerstoffen als kleine Differenzen zweier großer Zahlen ergeben. Hierbei

[1]) Berichte der Deutschen Chem. Ges. 23 (1890), S. 2084.

wurden die im Reichsgesundheitsamt ausgearbeiteten, in dem „Entwurfe zu Festsetzungen über Honig“ [1]) beschriebenen und in wenig veränderter Form den Ersatzmittelstellen vorgeschriebenen Analysenverfahren [2]) mit einigen weiter unten zu beschreibenden Vorsichtsmaßregeln angewandt. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind nachstehend zusammengestellt.

Bezeichnung der Proben	Invertzucker %	Rohrzucker %	Gesamtzucker %	Trockenmasse %	Nichtzucker %	Wasser %
Kunsthonig Nr. 1	75,4	4,8	80,2	82,7	2,5	17,3
„ „ 2	67,2	10,6	77,8	80,9	3,1	19,1
„ „ 3	73,7	3,5	77,2	80,3	3,1	19,7
„ „ 4	73,8	1,8	75,6	79,7	4,1	20,3
„ „ 5	74,5	5,6	80,1	82,6	2,5	17,4
„ „ 6	75,7	4,4	80,1	82,5	2,4	17,5
„ „ 7	73,4	4,2	77,6	82,8	5,2	17,2
„ „ 8	72,7	3,6	76,3	82,5	6,2	17,5
„ „ 9	76,1	2,8	78,9	81,6	2,7	18,4
„ „ 10	75,9	3,8	79,7	84,0	4,3	16,0
Mittelwerte . . .	73,8	4,5	78,4	82,0	3,6	18,0

Der Gehalt der untersuchten Kunsthonige an Gesamtzucker schwankte zwischen 75,6 und 80,2%, im Mittel berechnete er sich auf 78,4%, der Gehalt an gesamter Trockenmasse betrug 79,7 bis 84,0%, im Mittel 82,0%, der aus der Differenz sich ergebende Nichtzuckergehalt lag zwischen 2,4 und 6,2% und betrug im Mittel 3,6%. Danach enthalten die untersuchten Kunsthonige wesentliche Anteile an Nichtzuckerstoffen, die sich zum Teil offenbar bei der Inversion des Rohrzuckers gebildet haben. Es bestätigen sich somit die in dieser Richtung auch von anderer Seite gemachten Beobachtungen.

Sämtliche untersuchten Kunsthonige waren in fester Form (schnittfest) geliefert worden und entsprachen somit in dieser Beziehung der Forderung in der eingangs erwähnten Bekanntmachung. Was nun den Gehalt an Rohrzucker und Wasser anbelangt, von dem die Schnittfestigkeit abhängig ist, so betrug er bei den untersuchten Proben im Durchschnitt an Rohrzucker 4,5%, an Wasser 18,0%. Einen höheren Gehalt an Rohrzucker als 10% wies nur Kunsthonig Nr. 2 auf (10,6%), nur ein Kunsthonig (Nr. 4) enthielt etwas über 20% Wasser (20,3%). Dieser Befund würde der vorerwähnten Annahme von Behre und Ehrecke nicht entgegenstehen, wonach Kunsthonige, deren Rohrzuckergehalt etwa 10% beträgt und deren Wassergehalt 20% nicht wesentlich überschreitet, im allgemeinen die gewünschte Schnittfestigkeit besitzen werden. Es empfahl sich jedoch, unter Berücksichtigung der Erfahrungen der Kunsthonigfabrikanten und im Hinblick darauf, daß bei der Winter-

[1]) Verlag von Julius Springer, Berlin (1912).

[2]) Rundschreiben des Reichswirtschaftsministers vom 10. Oktober 1919, Veröff. d. Reichsgesundheitsamts 1920, S. 20.

ware zur Erhaltung der Streichfähigkeit ein etwas höherer Wassergehalt erwünscht ist, die Grenze für den zulässigen Wassergehalt auf 22% zu erhöhen.

Im Hinblick auf die wiederholten Klagen besonders über die zu flüssige Beschaffenheit des Kunsthonigs schien es erwünscht, für die Herstellung von Kunsthonig Richtlinien aufzustellen, die eine einwandfreie Beschaffenheit der Ware in dieser Beziehung gewährleisten. Nach den vorstehenden Ausführungen war für diesen Zweck die Begrenzung des Wasser- und Rohrzuckergehaltes ausreichend, und zwar konnte als Höchstgrenze für den Gehalt an Rohrzucker 10% und für den Gehalt an Wasser 22% zugelassen werden. Dem ist Rechnung getragen durch die Bestimmung in der Bekanntmachung von Grundsätzen für die Erteilung und Versagung der Genehmigung von Ersatzlebensmitteln vom 30. September 1919[1]) in der es heißt: „Kunsthonig muß mindestens 78 v. H. Trockenmasse und darf höchstens 10 v. H. Rohrzucker (Saccharose) enthalten."

Wie erwähnt, waren zur Ermittelung der Zusammensetzung der einzelnen Kunsthonigproben sehr genaue Analysen erforderlich. Die dabei gemachten Beobachtungen können vielleicht allgemein für die Untersuchung von Honig und Kunsthonig von Nutzen sein und sollen daher kurz wiedergegeben werden.

1. Entnahme der einzelnen Proben. Liegt die Kunsthonigprobe in einem Paket von etwa 1 Pfund Gewicht vor, so ist, weil bei längerem Aufbewahren an der Luft der Kunsthonig Wasser verliert, sofort nach der Einlieferung die ganze Probe in eine Flasche mit eingeschliffenem Glasstopfen zu bringen. Bei größeren Mengen ist unter Berücksichtigung des Umstandes, daß die Randschichten in der Regel wasserärmer sind als die inneren Teile, aus möglichst verschiedenen Teilen eine Mittelprobe in der Menge von etwa 1 Pfund zu entnehmen. Die Durchmischung der Probe muß mit ganz besonderer Sorgfalt vorgenommen werden, weil es sich um ein Gemisch einer zähen Flüssigkeit mit mehreren stofflich verschiedenen festen Phasen (Saccharose, Glucose, Fructose) handelt, das auch bei leichter Erwärmung — stärkeres Erhitzen ist wegen der Gefahr der Zersetzung oder fortschreitenden Inversion zu vermeiden — nicht einheitlich wird. Zum Zwecke der gründlichen Durchmischung der Probe erwärmt man in der mit Glasstopfen verschlossenen Flasche den Kunsthonig in einem nicht über 50° warmen Wasserbad unter öfterem Umrühren. Ist die Masse genügend durchmischt, so läßt man sie unter häufigem Umrühren durch Einstellen in kaltes Wasser rasch erkalten und entnimmt sofort mit einem Löffel die erforderliche Menge. Damit die auch dann etwa noch nicht völlig ausgeglichene Zusammensetzung nicht innerhalb der Analyse zu Fehlern Veranlassung gibt, ist es geboten, soweit als möglich, für alle Untersuchungen von einer einheitlichen Lösung einer einmal entnommenen größeren Probe (Stammlösung) auszugehen. Als zweckmäßig hat sich erwiesen, eine in je 100 ccm genau 20 g Kunsthonig enthaltende Lösung herzustellen, indem man genau 50 g Kunsthonig der durchmischten Probe entnimmt und nach Lösen in Wasser in einem Meß-

[1]) Veröff. d. Reichsgesundheitsamtes 1919, S. 629.

kolben zu 250 ccm bei 15° auffüllt. Diese Stammlösung verwendet man zur Bestimmung der Trockenmasse aus der Dichte, des Invertzuckers und des Rohrzuckers.

2. Bestimmung der Trockenmasse. Um einen Anhaltspunkt zu gewinnen für die Genauigkeit bei der Ermittelung der Trockenmasse aus der Dichte, wurde diese Bestimmung in einem Kunsthonig (Nr. 10) mehrere Male ausgeführt. Zunächst wurde nach der Vorschrift für die Untersuchung von Honig in den „Festsetzungen über Honig", S. 10, der Trockenrückstand aus der Dichte zweimal bestimmt, indem je 10 g Kunsthonig einzeln abgewogen, nach Lösen in Wasser in ein Pyknometer übergeführt und in der bekannten Weise die spezifischen Gewichte ermittelt wurden. Die Berechnung erfolgte nach der Formel $t = \frac{d^{15}_{4} - 0{,}99913}{0{,}000771}$. Es ergaben sich 83,95 bezw. 83,98, im Mittel 84,0% Trockmenmasse. Alsdann wurden zwei Stammlösungen durch Auflösen von je 50 g Kunsthonig in 250 ccm hergestellt. In der einen wurde in der angegebenen Weise die Trockenmasse zu 84,04 bezw. 84,05, im Mittel zu 84,0%, in der anderen Lösung zu 84,08 bezw. 84,10, im Mittel zu 84,1% gefunden. Nach beiden Verfahren der Probenahme sind also praktisch die gleichen Werte erhalten worden. Die Verwendung einer Stammlösung würde jedoch vorzuziehen sein, weil alsdann der Kunsthonig nicht für jede einzelne Bestimmung der Trockenmasse abgewogen zu werden braucht.

Zum Vergleiche wurde die Trockenmasse nach einem zweiten, ebenfalls in dem Entwurf zu Festsetzungen über Honig angegebenen Verfahren durch Eintrocknen in der Wärme im Vakuum und unmittelbare Wägung des Rückstandes unter Verwendung des von Fiehe und Stegmüller[1]) beschriebenen Trockenapparates bestimmt. Dabei wurden 84,4 bezw. 84,7, im Mittel 84,5% Trockenmasse gefunden, also nur 0,4% mehr, als aus der Dichte der Lösung sich ergeben hatte. Bei Honig können nach Versuchen von Fiehe und Stegmüller[2]) die Unterschiede der nach den beiden angegebenen Verfahren bestimmten Trockenmasse unter Umständen 1,5% erreichen. Es ist anzunehmen, daß bei Kunsthonigen, die ihrer chemischen Zusammensetzung nach im allgemeinen einheitlicher sein werden als Bienenhonige, der Unterschied zwischen der aus der Dichte berechneten und der durch Eintrocknen ermittelten Trockenmasse nicht so erheblich sein wird. Sichere Aufschlüsse hierüber würden jedoch erst vergleichende Untersuchungen einer größeren Anzahl von Kunsthonigen geben.

3. Bestimmung der Zuckerarten. Für die Bestimmung der einzelnen Zuckerarten, bei denen die erhaltenen Werte — sowohl für die Ermittelung des Rohrzuckers wie auch für die etwa gewünschte Ermittelung der Nichtzuckerstoffe — zur Differenzbildung herangezogen werden, empfiehlt es sich ganz besonders, von einer einheitlichen Stammlösung auszugehen und ferner für beide Bestimmungen, die des direkt reduzierenden Zuckers und die des Gesamtzuckers, die gleiche verdünnte Lösung zu verwenden. Dies geschieht zweckmäßig, indem man eine 0,7 bis höchstens 0,8% Kunsthonig enthaltende Lösung bereitet, z. B. 10 ccm der etwa 20%igen Stammlösung

[1]) Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt 40 (1912), 305.

[2]) A. a. O. S. 313.

auf 250 ccm verdünnt, von dieser 25 ccm für die Bestimmung des direkt reduzierenden Zuckers unmittelbar verwendet und 50 ccm für die Rohrzuckerbestimmung in ein Meßkölbchen von 100 ccm Inhalt pipettiert. Die letztere zu invertierende Lösung verdünnt man mit Wasser auf etwa 75 ccm, setzt 5 ccm Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 hinzu und erwärmt unter häufigem Umschütteln in einem etwas über 70° warmen Wasserbad innerhalb 5 Minuten auf 67—70°. Auf dieser Temperatur wird der Kolbeninhalt noch 5 Minuten unter häufigem Umschütteln gehalten, dann wird durch Einstellen des Kolbens in kaltes Wasser rasch abgekühlt, mit Alkalilauge versetzt, bis die Lösung nur noch schwach sauer reagiert, und bei 15° auf 100 ccm aufgefüllt. 50 ccm dieser Lösung entsprechen 25 ccm der nicht invertierten Lösung, die zur Bestimmung des ursprünglich vorhandenen reduzierenden Zuckers verwendet worden ist. Der Unterschied zwischen den in beiden Lösungen, d. h. in 25 ccm der nicht invertierten und in 50 ccm der invertierten Lösung gefundenen Invertzuckermengen ergibt demnach unmittelbar die Menge des aus dem Rohrzucker der Probe entstandenen Invertzuckers.

Bei der Einwirkung der zuckerhaltigen Flüssigkeit auf 50 ccm der Fehlingschen Lösung muß die Menge der Kochflüssigkeit stets 100 ccm betragen. Da man nach vorstehender Vorschrift für die Bestimmung des direkt reduzierenden Zuckers nur 25 ccm von der zu untersuchenden Flüssigkeit verwendet, sind den 50 ccm Fehlingscher Lösung noch 25 ccm Wasser hinzuzusetzen. Als Kochkolben kann zur Vermeidung des Herausspritzens der Flüssigkeit bei unregelmäßigem Kochen statt eines etwa 300 ccm fassenden Erlenmeyerschen Kolbens aus Jenaer Geräteglas ein gleichgroßer schräger, sogenannter Boltonscher Kolben aus demselben Material verwendet werden. Es ist weniger zeitraubend, das abgeschiedene Kupferoxydul durch Glühen unter Durchleiten eines Luftstromes in Kupferoxyd überzuführen, als es im Wasserstoffstrom zu Kupfer zu reduzieren, jedoch muß der Luftstrom genügend kräftig sein. Nach früheren Versuchen von Fiehe und Stegmüller[1]) und den weiter unten folgenden Analysenergebnissen dürfte gegen die Wägeform des Kupfers als Kupferoxyd bei der Zuckerbestimmung im Honig oder Kunsthonig nichts einzuwenden sein.

Zum Vergleiche seien noch die Untersuchungsergebnisse von zwei unter Beobachtung der erwähnten Vorsichtsmaßregeln hergestellten Stammlösungen zusammengestellt; die Werte für die Trockenmasse waren vorstehend schon angeführt worden.

Untersuchung der ersten Probenahme.

40,000 g Kunsthonig in Wasser gelöst und auf 200 ccm aufgefüllt.

Trockenmasse aus der Dichte der Lösung %		Invertzucker %		Rohrzucker %		Gesamtzucker %	Nichtzucker %
	Mittel		Mittel		Mittel		
84,04		76,0		3,7		79,7	4,3
	84,0		75,9		3,8		
84,05		75,8		3,9			

[1]) A. a. O. S. 323.

Untersuchung der zweiten Probenahme.

40,000 g Kunsthonig in Wasser gelöst und auf 200 ccm aufgefüllt.

Trockenmasse aus der Dichte der Lösung %		Invertzucker %		Rohrzucker %		Gesamtzucker %	Nichtzucker %
	Mittel		Mittel		Mittel		
84,08		75,8		3,2		79,5	4,6
	84,1		75,9		3,6		
84,10		76,0		4,1			

Ferner wurden zur Prüfung der Genauigkeit der Rohrzuckerbestimmung und der Frage, ob die für die Inversion vorgeschriebene Temperatur hoch genug ist, einige Untersuchungen von reinem Rohrzucker ausgeführt.

Bei zwei Inversionsversuchen in einem Wasserbade, dessen Temperatur zwischen 71 und 72° schwankte, stieg die Temperatur der zu invertierenden Rohrzuckerlösungen von gleichem Gehalt in den beiden 100 ccm-Kolben in 5 Minuten bis auf 69° und betrug am Ende der 6. Minute 70,0°, am Ende der 10. Minute 70,3°. Die Untersuchung der beiden Lösungen ergab folgende Werte:

	Gewogen mg CuO	Gefunden % Rohrzucker	
			Mittel
Lösung 1	356,0	98,0	98,3
	358,3	98,6	
			Mittel
Lösung 2	358,7	98,7	98,5
	357,3	98,3	

Ein dritter Inversionsversuch mit einer gleich starken Rohrzuckerlösung wurde bei einer Temperatur des Wasserbades von 75° ausgeführt. Die Temperatur der zu invertierenden Rohrzuckerlösung stieg in 5 Minuten auf 73,0°, betrug am Ende der 6. Minute 74,0° und am Ende der 10. Minute 74,6°. Die Untersuchung dieser Lösung ergab nachstehende Werte:

	Gewogen mg CuO	Gefunden % Rohrzucker	
			Mittel
Lösung 3	358,4	98,6	98,4
	356,9	98,2	

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die nach dem vorgeschriebenen Verfahren ausgeführte Rohrzuckerbestimmung genügend genaue Werte liefert, daß eine Wasserbadtemperatur von etwas über 70° genügt, daß aber auch beim Erhitzen auf nahe 75° eine Zersetzung des Zuckers noch nicht eintritt.

Berlin, Chemisches Laboratorium des Reichsgesundheitsamts, im März 1920.

Über eine titrimetrische Methode zur Bestimmung der gesamtschwefligen Säure in organischen Substanzen nach dem Destillationsverfahren.

Von

Dr. Victor Froboese,

wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Reichsgesundheitsamte.

Mit 1 Abbildung im Text.

Für die titrimetrische Bestimmung der schwefligen Säure gibt es bereits sehr gute Methoden, die aber nur richtige Werte liefern, solange neben der schwefligen Säure keine organischen Substanzen beim Titrieren vorhanden sind. Läßt man z. B. eine zu bestimmende Lösung schwefliger Säure unter beständigem Umschwenken zu eingestellter Jodlösung fließen (nicht umgekehrt!) bis zur Entfärbung, so erhält man richtige Werte (1000 ccm $^1/_{10}$ n-Jodlösung $= \frac{SO_2}{20} = 3{,}203$ g SO_2), nicht aber, wenn die schweflige Säurelösung noch andere Jod verbrauchende Substanzen enthält. Es blieb dann bisher nur übrig, die schweflige Säure enthaltende Lösung mit Phosphorsäurezusatz zunächst zu destillieren und im Destillat die durch Jod oxydierte schweflige Säure als Bariumsulfat gewichtsanalytisch zu bestimmen. Doch kommt es oft vor, daßmit Wasserdampf flüchtige organische Substanzen gleichfalls überdestillieren, die, wenn sie schwefelhaltig sind, die gewichtsanalytische Bestimmung beeinträchtigen. Dieses Destillationsverfahren ist von Haas (1) angegeben, und man hat es bereits vielfach benutzt, um die gesamtschweflige Säure in der Sulfitzelluloseablauge (2), im Wein (3), im Dörrobst (4), in gebleichter Gelatine (5) usw. zu bestimmen. Es ist auch verschiedentlich versucht worden, die umständliche gewichtsanalytische Bestimmungsweise durch eine titrimetrische zu ersetzen. So z. B. haben Franz und Sonntag (6) das Destillat in Wasserstoffsuperoxydlösung geleitet und die gebildete Schwefelsäure mit Natronlauge titriert, ein Verfahren, was aber für Gelatine (7) und anderes nicht anwendbar ist.

Bestimmungen von gesamtschwefliger Säure in Sulfitzelluloseablauge, sogenannter Kocherlauge, sowie im Abwasser, das solche enthielt, gaben die Veranlassung, nach einem abgekürzten Verfahren zu suchen, das möglichst für alle die organischen Substanzen brauchbar ist, für welche schweflige Säurebestimmungen in Frage kommen.

Da die Vermeidung einer Destillation mit Phosphorsäure für die oben angeführten Stoffe, wie Sulfitzelluloseablauge, Dörrobst, Wein nicht möglich ist, so konnte es sich nur darum handeln, die Gewichtsanalyse durch ein Titrationsverfahren in der Haasschen (1) Methode zu ersetzen.

Das alte Haassche Verfahren wurde folgendermaßen ausgeführt: Die Substanz wurde, mit Wasser verdünnt, in einem Destillationskolben nach Zusatz von 25 ccm 25%iger Phosphorsäure im Kohlensäurestrom destilliert. Das Destillat wurde in Jodlösung aufgefangen und die entstandene Schwefelsäure nach Wegkochen des überschüssigen Jods als Bariumsulfat gefällt und gewogen.

Versuche, eingestellte vorgelegte Jodlösung zurückzutitrieren, sind schon ohne Erfolg von H. Schmidt (4) gemacht worden, da Jodverluste durch Verflüchtigung nicht zu vermeiden waren. Leider oxydiert eine Auflösung von Jod in Kalilauge die eingeleitete schweflige Säure nicht quantitativ, sonst wäre auf diese Weise ohne Jodverluste eine titrimetrische Methode mit bestimmten Einschränkungen möglich gewesen. Ich suchte also zunächst statt der Jodlösung nach einem Oxydationsmittel, das zwar die schweflige Säure oxydierte, mit der schwefligen Säure überdestillierende, gelöste organische Substanzen jedoch nicht, und das ferner gestattete, den zur Oxydation nicht verbrauchten Rest zurückzutitrieren. Zunächst kam es für mich nur darauf an, neue Vereinfachungen zur Bestimmung der gesamtschwefligen Säure an Sulfitablauge mit etwa 0,3 g SO_2 in 100 ccm zu erproben.

Wollte man bei der Destillation als vorgelegte Flüssigkeit ein Oxydationsmittel beibehalten, so konnte noch eine $^1/_{10}$ normale Wasserstoffsuperoxydlösung in Frage kommen, deren Gehaltsbestimmung mit $^1/_{10}$ n-Permanganatlösung leicht möglich war. Auch schien die Tatsache verlockend, daß hier in Betracht kommende, mit in das Destillat übergehende organische Substanzen durchaus nicht leicht durch Wasserstoffsuperoxyd oxydiert werden. Es scheint in den reinen Destillaten für die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds der Katalysator zu fehlen, oder es bestätigen sich hier die schon in der Literatur geäußerten Vermutungen, daß bei der Wasserstoffsuperoxydzersetzung die Teilchengröße einer anwesenden, durch Wasserstoffsuperoxyd oxydierbaren, organischen Substanz eine Rolle spielt. Wie sich bei Versuchen mit Wasserstoffsuperoxydlösung jedoch zeigte, ist es bei Gegenwart von organischen Substanzen im Destillat nicht möglich, zum Zurücktitrieren Kaliumpermanganatlösung zu verwenden oder den Wasserstoffsuperoxydrest jodometrisch zu finden, da hierbei ein durch die organischen Stoffe bedingter Mehrverbrauch eintritt, der falsche Werte für die schweflige Säure veranlaßt. Fehlen organische Stoffe im Destillat, so erhält man richtige Werte. Die Arbeitsweise sei deshalb dennoch hier angeführt: 20 ccm Sulfitablauge wurden mit 150 ccm Wasser verdünnt; mit 25 ccm 25%iger Phosphorsäure versetzt und $1^1/_4$ Stunde unter Durchleiten von Kohlensäure destilliert. Das Destillat wurde aufgefangen in 20 ccm eingestellter $^1/_{10}$ n-Wasserstoffsuperoxydlösung, die mit 10 ccm Salzsäure (1 Vol. HCl + 3 Vol. H_2O) angesäuert war. Die nicht verbrauchte Wasserstoffsuperoxydlösung wurde durch $^1/_{10}$ n-Kaliumpermanganatlösung zurücktitriert und dann zur Kontrolle in dieser Lösung die Schwefelsäure gewichtsanalytisch bestimmt. Craig (8) hat bereits auf dieses titrimetrische Verfahren reiner Schwefligsäurelösungen

hingewiesen. Der erhaltene titrimetrische Wert 0,21 g SO_2 in 100 ccm Ablauge stimmte mit dem gewichtsanalytisch gefundenen 0,20 und dem durch das alte Verfahren von Haas festgestellten 0,21 g gut überein. Jedoch wurde bei einer anderen frischeren Kocherlauge kein genaues Resultat erhalten, weil der Endpunkt beim Zurücktitrieren mit $^1/_{10}$ n-Permanganatlösung durch eine mit in das Destillat übergegangene organische Substanz, die dauernden Mehrverbrauch an $^1/_{10}$ n-Permanganat veranlaßte, nicht mehr scharf zu erkennen war. Es wird also bei allen Oxydations- oder jodometrischen Verfahren derselbe Übelstand bestehen bleiben, daß bei Destillationsgemischen von schwefliger Säure und flüchtigen organischen Substanzen entweder durch das Oxydationsmittel nicht nur die schweflige Säure, sondern auch die organische Substanz, oft noch dazu selbst schwefelhaltig, teilweise mit oxydiert wird, oder daß die zum Zurücktitrieren notwendigerweise anzuwendende Flüssigkeit auch auf die organische Substanz wirkt und somit falsche Werte verursacht.

Ich verließ die Oxydations- und jodometrischen Methoden und wandte mich der Acidimetrie zu. Ehe ich darauf eingehe, möchte ich noch erwähnen, daß ich zunächst Versuche anstellte, in welcher Zeit die schweflige Säure quantitativ bei Einleiten von Kohlensäure während des Destillierens übergetrieben ist. Ich konnte feststellen, daß bei 400 ccm Flüssigkeit erst in $1^1/_4$ Stunde stets alle schweflige Säure übergegangen war, wie aus den in Tabelle 1 aufgezeichneten Versuchen hervorgeht. Auch interessierte mich die Wirkung der Kohlensäure, welche stets in der Literatur als zur Verhinderung der Oxydation der schwefligen Säure dringend nötig angegeben wird. Ohne jegliche Kontaktsubstanzen oxydiert sich aber freie schweflige Säure fast gar nicht und man kann freie schweflige Säure mit Wasserdampf und gereinigter Luft zusammen destillieren, ohne eine Spur von Schwefelsäurebildung im Destillat feststellen zu können.

Tabelle 1.

Nr.	Angewandte Lösung	Dauer der Destillation	Gefundene mg SO_2 in 100 ccm Lauge	Vorhandene mg SO_2 in 100 ccm Lauge	Bemerkungen
1	20 ccm Sulfitzellulose-Lauge 1913 + 350 ccm H_2O + 25 ccm 25 % H_3PO_4	$^1/_2$ Stunde	162	192	Die Bestimmungen sind nach dem Haas'schen Verfahren ausgeführt
2	desgl.	$^3/_4$ Stunde	176	192	
3	desgl.	1 Stunde	190	192	
4	desgl.	$1^1/_4$ Stunden	195	192	
5	desgl.	$1^1/_2$ Stunden	195	192	

Versuche ergaben auch, daß ohne Einleiten von Kohlensäure eine Oxydation der schwefligen Säure während des Überdestillierens nicht eintritt. Eine bei mehreren Destillationsversuchen vorgelegte, mit Salzsäure angesäuerte Bariumchlorid-

lösung blieb völlig klar. Schwefelsäurebildung war also auf diese Weise nicht nachzuweisen und es zeigte sich auch später durch Gegenüberstellung der Versuche 1—4 und 5—6 in Tab. 2, daß bei Alkalisulfit Verluste überhaupt nur in der zu destillierenden Lösung durch den in der Flüssigkeit gelösten Sauerstoff eintreten, wobei Verunreinigungen als Katalysatoren dienen, und es sind diese Verluste bei Alkalisulfitlösungen weit größer als bei reinen Lösungen von freier schwefliger Säure (siehe auch Förster 10). Dieselbe Menge Natriumsulfit oxydiert sich überdies durch Luftsauerstoff in reinstem herstellbaren Wasser gelöst, 100mal langsamer als bei Auflösung in gewöhnlichem destillierten Wasser. Nach meinen Erfahrungen läßt sich nur durch Einleiten von Kohlensäure in die zu destillierende Flüssigkeit beim Haasschen Verfahren ein geringer Verlust an schwefliger Säure durch Oxydation überhaupt nicht vermeiden. Die Anwendung von sauerstoffreiem, ganz reinem destillierten Wasser zum Verdünnen der im Destillationskolben befindlichen Substanzen verspricht eher Erfolg, da eine etwaige Oxydation von schwefliger Säure oder Schwefligsäure-Verbindungen stets in der zu destillierenden Flüssigkeit selbst eintritt, gasförmige schweflige Säure im Gemisch mit Luft und Wasserdampf jedoch während einer Destillation nicht merklich oxydiert wird. Daraus erklärt sich auch, daß die Oxydation, erkennbar am Verlust an schwefliger Säure, nicht stärker wird, wenn man ohne Kohlensäurestrom destilliert.

Tabelle 2.

Nr.	Gehalt der Na_2SO_3-Lösung, bestimmt durch Einfließenlassen in titrierte Jodlösung mg SO_2 in 100 ccm	Gefundene mg SO_2 in 100 ccm nach der Destillationsmethode titrimetrisch mit vorgelegter $NaHCO_3$-Lösung	Gefundene mg SO_2 gewichtsanalytisch nach dem Titrieren mit $^1/_{10}$ n-HCl	Angewandte Anzahl ccm Na_2SO_3-Lösung	Bemerkungen
1	592	550	547	20	Es wurden zu 150 ccm dest. Wasser 20 ccm eben titrierte Na_2SO_3-Lösung und 25 ccm 25 %-H_3PO_4 gegeben und im CO_2-Strom $1^1/_4$ Stunden destilliert.
2	576	537	543	20	
3	703	647	649	20	
4	687	642	645	20	
5	820	818	825	20	Hier wurde durch Anwendung von ausgekochtem Wasser zum Verdünnen eine Oxydation völlig ausgeschlossen.
6	37	35	36	20	

Dennoch wurde der Kohlensäurestrom beibehalten aus dem Grunde, weil er eine schnellere Austreibung der freien schwefligen Säure aus der Destillationsflüssigkeit bewirkt und die schweflige Säure mit in die Vorlage führt. Ein Teil Wasserdampf und mit ihm schwerer flüchtige organische Stoffe werden, um möglichst wenig von letzteren in das Destillat mit hinüber zu bekommen, durch einen langen, unten beschriebenen kühlenden Destillationsaufsatz wieder kondensiert. Dies ist wesentlich, wie ebenfalls weiter unten gezeigt werden wird, wenn es sich darum handelt, flüchtige organische Säuren während der Destillationszeit möglichst nicht mit überzutreiben. Da also

auf die Anwendung von Kohlensäure nicht verzichtet werden sollte, wurden Versuche gemacht, ob eine $^1/_{10}$ n-Lösung von Natriumbicarbonat, welche also keine Kohlensäure mehr absorbiert und daher ein gleichmäßiges Aufnehmen der schwefligen Säure gestattet, zum Vorlegen geeignet sei, die sich mit $^1/_{10}$ n-Salzsäure unter Anwendung von Methylorange gut titrieren läßt und auch sehr haltbar ist. Es stellte sich heraus, daß sich Natriumbicarbonatlösung sehr leicht mit schwefliger Säure quantitativ unter Bildung von Natriumsulfit umsetzt, und es war nur die Frage zu lösen, wie am besten das überschüssige Bicarbonat bei Anwesenheit des Sulfits zu titrieren ist. Ohne weiteres geht das nicht; denn auf Zufügen von $^1/_{10}$ n-Salzsäure würde alle Kohlensäure und auch alle schweflige Säure in Freiheit gesetzt. Aus der vorgelegten Bicarbonatlösung wird also nach der Gleichung: $SO_2 + 2\,NaHCO_3 = Na_2SO_3 + H_2O + 2\,CO_2$ aus 2 Mol Natriumbicarbonat 1 Mol Sulfit gebildet neben überschüssig zugesetztem Bicarbonat.

Versetzt man diese Lösung aber mit einer zur Oxydation des Sulfits zu Sulfat ausreichenden Menge etwa 30% H_2O_2 und kocht die Lösung auf, so erhält man ein Gemisch von Natriumsulfat mit Natriumcarbonat in Lösung, in der nach Abkühlen die Soda mit $^1/_{10}$ n-Salzsäure leicht zu titrieren ist. Da nun 2 Mol Bicarbonat 1 Mol Soda und letzteres 2 Mol Salzsäure entsprechen, so berechnet sich die schweflige Säure unter Berücksichtigung obiger Gleichung in der Weise, daß

$$1\ HCl = \frac{SO_2}{2}\ \text{ist.}$$

$$1\ ccm\ ^1/_{10}\ n\text{-}HCl = 3{,}2\ mg\ SO_2.$$

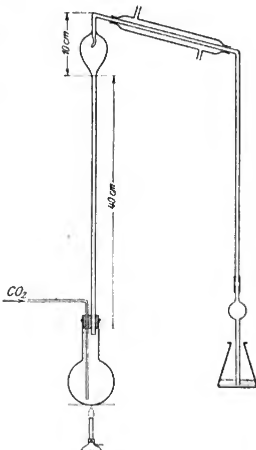


Fig. 1.

Die Anwendung dieser Methode lieferte gute Resultate, und ich will zunächst, ehe ich Zahlen gebe, noch Angaben über die am besten geeignete Apparatur machen. Zu allen auch im folgenden beschriebenen Gesamtschwefligsäurebestimmungen wurde die in der Zeichnung Fig. 1 erläuterte Apparatur verwendet.

Sie besteht im wesentlichen aus einem Kjeldahlaufsatz, dessen auf 40 cm verlängertes Rohr in einen 750 ccm Rundkolben mündet, durch dessen zweifach durchbohrten Stopfen noch das Kohlensäure-Einleitungsrohr bis auf seinen Boden führt. Auf den freien Arm des Aufsatzes ist ein kurzer Kühler geschoben, dessen Kühlrohr mit abnehmbarem Kugelrohr versehen ist, welches in einen mit Natriumbicarbonatlösung beschickten Erlenmeyerkolben taucht genau wie bei jeder Ammoniakbestimmung.

In den Destillationskolben bringt man etwa 400 ccm Flüssigkeit, abgesehen von den zugesetzten 50 ccm 25prozentiger Phosphorsäure, die am geeignetsten 80—90 mg schweflige Säure enthalten, so daß zum Vorlegen etwa 40 ccm $^1/_{10}$ n-Natriumbicarbonat-lösung genügen. Man erhitzt mit gewöhnlichem Bunsenbrenner, so daß in $1^1/_4$ Stunde etwa 200 ccm überdestilliert sind. Dann ist sicher alle freigemachte schweflige Säure in der Vorlage. Das Destillat wird nun mit der ausreichenden Menge 30prozentiger Wasserstoffsuperoxyd-Lösung versetzt, aufgekocht, bis keine Sauerstoff- oder CO_2-Entwicklung mehr beim Umschütteln wahrzunehmen ist (etwa 3 Minuten), und durch Einsetzen in kaltes Wasser abgekühlt. Darauf wird mit Methylorange versetzt und mit $^1/_{10}$ n-Salzsäure titriert. Diese titrimetrische Methode hat noch den Vorteil, daß sie stets eine beabsichtigte gewichtsanalytische Bestimmung der schwefligen Säure nach dem Titrieren zuläßt.

Um die Methode zu erproben, wurden zunächst mehrere Versuche mit einer kurz vor dem Einfüllen in den Destillationskolben mit Jodlösung titrierten Lösung von Natriumsulfit gemacht. Es stimmten die mit Hilfe der Salzsäuretitration und der nachfolgenden gewichtsanalytischen Bestimmung gefundenen Werte (siehe Tab. 2) sehr gut überein, doch sind diese sämtlich etwas niedriger, fast um den gleichen Betrag, außer bei Versuch Nr. 5 und 6. als die mit Hilfe der Jodtitration erhaltenen Werte. Der Grund liegt in der schnellen Oxydation der in den Destillationskolben gebrachten Lösung, die bei Versuch 1—4 mit nicht ausgekochtem destillierten Wasser verdünnt wurde, während bei Versuch 5 u. 6 im Kohlensäurestrom ausgekochtes Wasser angewendet und die Natriumsulfitlösung sofort nach dem Einstellen mit Jodlösung unter Anwendung eines Hahntrichters in den mit Kohlensäure gefüllten Kolben hineingespült wurde. Wie sehr gerade Natriumsulfit von dem in Wasser gelöstem Sauerstoff oxydiert wird, hat bereits Legler (9) untersucht und darauf eine Bestimmungsmethode des in Wasser gelösten Sauerstoffs begründet.

Tabelle 3.

Nr.	Angewandte Lösung	Nach dem Haas-schen Verfahren gewichts-analytisch gefundene mg SO_2 in 100 ccm	Titrimetrisch mit vorgelegter $NaHCO_3$-Lösung gefundene mg SO_2 in 100 ccm	Nach dem Titrieren m. $^1/_{10}$ HCl gewichts-analytisch gefundene mg SO_2 in 100 ccm	Bemerkungen
1	7 Jahre alte Sulfit-zelluloseablauge	190	200	190	Das Destillat roch noch widerlicher als die Kocherlauge
2	1 Monat alte Sulfit-zelluloseablauge	262	289	270	
3	Verdünnte Kocherlauge	170	180	180	
4	Stark verdünnte Kocherlauge	29	30	34	

Hierauf wurde die neue Methode zur Bestimmung der gesamtschwefligen Säure in Sulfitzelluloseablauge angewendet. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 verzeichnet. In den Destillationskolben wurden 20 ccm Ablauge, dazu 330 ccm ausgekochtes Wasser und 50 ccm 25 prozentige Phosphorsäure gegeben. Stets wurde auch hier nach der Titration mit $^1/_{10}$ n-Salzsäure die gewichtsanalytische Bestimmung ausgeführt, indem die titrierte Flüssigkeit erhitzt, kochend mit zugetropfter Chlorbariumlösung gefällt, das Bariumsulfat schließlich gewogen und dadurch die titrimetrischen Werte als richtig bestätigt wurden. Um zu zeigen, daß bei Sulfitablaugen die Werte für die gesamtschweflige Säure nach dem titrimetrischen Verfahren denen nach dem alten Haasschen Verfahren gewonnenen entsprechen, sind die auf letztere Weise erhaltenen Zahlen danebengestellt.

Bei beiden Bestimmungen der schwefligen Säure, in Sulfitzelluloseablauge und in mit dieser versetztem Abwasser, gingen stets intensiv riechende organische Substanzen, die oft im Kühler Beschläge bildeten, mit in das Destillat über. Mehrere blinde Destillationsversuche mit einem mit Phosphorsäure versetzten Abwasser allein ergaben keinen Verbrauch an vorgelegter Natriumbicarbonatlösung. Da ferner bei den hier in Betracht kommenden Bestimmungen die Möglichkeit vorliegen kann, daß neben schwefliger Säure auch geringe Mengen Schwefelwasserstoff mit in die Bicarbonatlösung übergehen können — Schwefelwasserstoff ist neben schwefliger Säure nach den Untersuchungen von Heinze (11) sehr wohl kurze Zeit beständig ohne Schwefel abzuscheiden — so wurde der Einfluß von Schwefelwasserstoff auf Natriumbicarbonatlösung ebenfalls untersucht und gefunden, daß eine dem Abwasser zugesetzte Menge gesättigten Schwefelwasserstoffwassers keinen Einfluß auf das vorgelegte Bicarbonat ausübt. Schwefelwasserstoff wird durch die vorgelegte Bicarbonatlösung nicht gebunden, sondern sogar, wenn gelöst, durch den Kohlensäurestrom wieder aus der Lösung verjagt, so daß auch die nachfolgende gewichtsanalytische Bestimmung nicht durch ihn zu hoch ausfallen kann. Schwefelwasserstoff würde auch nicht einmal bei der Titration stören; er beeinflußt nicht Methylorange in merkbarer Weise. Wenn man nämlich 20 ccm $^1/_{10}$ n-Natriumbicarbonatlösung mit 20 ccm gesättigten Schwefelwasserstoffwassers versetzt und mit $^1/_{10}$ n Salzsäure titriert, so verbraucht man ebenfalls nur 20 ccm $^1/_{10}$ n-Salzsäure. Auch andere schwefelhaltige flüchtige organische Stoffe stören bei der Titration nicht. Die Methode gestattet also auch schweflige Säure bei Gegenwart von Schwefelwasserstoff genau zu bestimmen.

Tab. 4 enthält die Resultate, welche bei Sulfitzellulose-Ablauge enthaltendem Abwasser gefunden wurden.

Es haben diese Bestimmungen insofern ein Interesse, als sie Anwendung finden können, wenn es sich darum handelt, die von eingeleiteten Sulfitzelluloseablauge herrührende Menge gesamtschwefliger Säure im Abwasser zu bestimmen. Auch eine gesonderte Bestimmung noch vorhandener freier, Material angreifender schwefliger Säure (die nach den Bestimmungen über die Ableitung von Sulfitablaugen in Kanäle eigentlich völlig an Kalk gebunden sein sollte, abgesehen von dem Teil, der an organische Stoffe gebunden ist) und gebundener schwefliger Säure ist dadurch möglich, daß man zunächst ohne Phosphorsäurezusatz destilliert, dann neue Bicarbonatlösung vorlegt,

Tabelle 4.

Nr.	Angewandte Lösung	Gefundene mg SO_2 in der angewandten Menge nach dem Haasschen Verfahren	Gefundene mg SO_2 in der angewandten Menge titrimetrisch mit vorgelegter $NaHCO_3$-Lösung	Gefundene mg SO_2 in der angewandten Menge gewichtsanalytisch nach dem Titrieren mit $^1/_{10}$ n-HCl	Aus dem Gehalt der Sulfitlauge ungefähr berechnete mg SO_2 in angewandter Menge	Bemerkungen
1	Sulfitlauge enthaltendes Abwasser	69,4	71,6	70,4	ca. 70	Das Abwasser enthielt 20 ccm Sulfitlauge (ca. 0,34 % SO_2) auf 400 ccm Flüssigkeit
2	Sulfitlauge enthaltendes Abwasser	34,6	37	34,4	ca. 35	Das Abwasser enthielt 10 ccm Sulfitlauge (ca. 0,34 % SO_2) auf 400 ccm Flüssigkeit
3	Abwasser mit freierschwefliger Säure enthaltender Sulfitlauge versetzt	82,1	83	82,9	ca. 85,9 (einschl. freier SO_2)	Das Abwasser enthielt Sulfitlauge, deren Gehalt mit SO_2 erhöht wurde (ca. 1,10 % SO_2)

Phosphorsäure zugibt und weiterdestilliert. Es ist dies eigentlich eine Trennung der festgebundenen von der sehr labil gebundenen, schon durch Kochen abgespaltenen plus frei gelösten schwefligen Säure.

Es schien nun auch nicht unangebracht, die Methode an schweflige Säure enthaltendem Wein zu erproben. Die folgenden nahrungsmittelchemischen Versuche sollen keinen Anspruch auf Vollständigkeit machen, da nur wenige Proben zur Verfügung standen, doch können die Ergebnisse von Interesse sein.

Von den vielen Methoden zur Bestimmung der schwefligen Säure im Wein ist bisher stets die Haassche gewichtsanalytische Methode die sicherste und am meisten angewendete gewesen. Nur schien es hier zunächst fraglich, ob nicht bei Anwesenheit von viel flüchtigen organischen Säuren im Wein die Anwendung von Natriumbicarbonat in der vorzulegenden Lösung unmöglich gemacht werde. Es wurde daher zunächst der Versuch gemacht, wieviel Essigsäure z. B. unter Beibehaltung der oben beschriebenen Apparatur, der Destillationszeit von $1^1/_4$ Stunde (während welcher die schweflige Säure übergetrieben ist), des Kohlensäurestromes und des Flüssigkeitsvolumens von 400 ccm überdestilliert.

Es wurden dazu 50 ccm $^1/_{10}$ n-Essigsäure mit 350 ccm Wasser in den Kolben gebracht und destilliert. Nach $1^1/_4$ Stunde wurden nur 2 ccm $^1/_{10}$ n-Essigsäure in der Vorlage wiedergefunden.

Aus den folgenden, in Tabelle 5 zusammengestellten Versuchen, in denen $^1/_{10}$ n-Natriumbicarbonatlösung unmittelbar mit steigenden Mengen $^1/_{10}$ n-Essigsäurelösung versetzt und dann mit Methylorange als Indicator mit $^1/_{10}$ n-Salzsäure titriert wurde,

ist zu ersehen, daß der wahre Salzsäureverbrauch durch Essigsäurezusatz verhältnismäßig wenig geändert wird. Eine genaue Titration ist indessen infolge Unscharfwerdens des Neutralpunktes auch nicht möglich.

Tabelle 5.

Nr.	Angewandte ccm $^1/_{10}$ n-$NaHCO_3$-Lösung mit 30 ccm H_2O verdünnt	ccm zugefügter $^1/_{10}$ n-Essigsäure	Verbrauchte ccm $^1/_{10}$ n-HCl	Ohne Zufügen von Essigsäure wären verbraucht worden ccm $^1/_{10}$ n-HCl	Bemerkungen
1	20	5	ca. 20,2	20,7	Mit Methylorange unscharfer Umschlag infolge Essigsäurezusatz.
2	20	10	ca. 19,2	20,7	
3	20	20	ca. 18,4	20,7	

Tabelle 6.

Nr.	Angewandte Lösung	Die benutzte SO_2-Lösung kurz vor Beginn des Versuches mit Jodlösung titriert und in die Kolben eingefüllt. Berechnete Menge mg SO_2 in angewandter Menge	Titrimetrisch mit vorgelegter $NaHCO_3$-Lösung gefundene mg SO_2 in angewandter Menge	Gewichtsanalytisch gefundene mg SO_2 nach dem Titrieren mit $^1/_{10}$ n-HCl in angewandter Menge
1	15 ccm $^1/_{10}$ n-Essigsäure + SO_2-Lösung + H_2O + H_3PO_4	90	90,8	87
2	Wie bei 1	90	89,9	86
3	50 ccm $^1/_{10}$ n-Essigsäure + SO_2-Lösung + H_2O + H_3PO_4	84	88,6	89
4	Wie bei 3	84	87	85,6

Dagegen zeigen die in Tab. 6 angeführten Versuche, bei denen genau bekannte Schwefligsäurelösungen mit $^1/_{10}$ n-Essigsäure gemischt, destilliert wurden, also die Bedingungen wie sie beim Wein vorliegen, innegehalten waren, daß richtige Werte für die schweflige Säure mit der neuen titrimetrischen Methode gefunden wurden, wenn hierbei der verlängerte Destillationsaufsatz angewandt wurde. Dadurch wird erreicht, daß die die Titration im Destillat störende Essigsäure zum größten Teil im Destillationskolben zurückgehalten wird und nicht mit in das Destillat übergeht.

Tab. 7 zeigt einige Bestimmungen von Gesamtschwefligersäure in Weißwein. Zu Versuch 1 wurde ein reiner Tresterwein benutzt, in dem nach dem Haasschen Verfahren 7,1 mg, nach dem titrimetrischen Verfahren 8,5 mg und gewichtsanalytisch nach dem Titrieren 8,1 mg schweflige Säure in 100 ccm festgestellt wurden. Zu Versuch 2 wurde dieser Wein noch mit einer Lösung von schwefliger Säure versetzt, dabei wurden ebenfalls brauchbare Werte erhalten. Für Nr. 3 und 4 wurde Saccharin-

Tabelle 7.

Nr.	Angewandte Lösung	Die benutzte SO_2-Lösung kurz vor Beginn des Versuches mit Jodlösung titriert und in den Kolben eingefüllt. mg SO_2		Nach dem Haasschen Verfahren gefundene mg SO_2		Titrimetrisch mit vorgelegter $NaHCO_3$-Lösung gefundene mg SO_2		Gewichtsanalytisch gefundene mg SO_2 nach dem Titrieren mit $^1/_{10}$ n-HCl	
		in angewandter Menge	in 100 ccm	in angewandter Menge	in 100 ccm	in angewandter Menge	in 100 ccm	in angewandter Menge	in 100 ccm
1	400 ccm Wein (Reiner Tresterwein)	—	—	28,5	7.1	34,0	8,5	32,3	8,1
2	200 ccm Wein Nr. 1 + SO_2-Lösung	35,8	17,9	48,7	24,4	50,3	25,2	50,0	25,0
3	400 ccm Wein + SO_2-Lösung (Saccharinhaltiger Wein)	85,0	21,3	—	—	94,0	23,5	96,5	24,1
4	200 ccm Wein Nr. 3 + SO_2-Lösung	42,0	21,0	—	—	44,0	22,0	45,9	23,0

haltiger Wein, der frei von schwefliger Säure war und gerade zur Verfügung stand, mit einer Lösung von schwefliger Säure versetzt; hierbei wurden die berechneten Mengen schwefliger Säure auch titrimetrisch wiedergefunden. Nach diesen Versuchen noch weitere verschiedenartige Weine heranzuziehen, lag außerhalb des Rahmens dieser Arbeit.

Auch an geschwefelten Backäpfeln wurde die Methode mit gutem Ergebnis erprobt.

Eine Probe (Nr. 1, Tab. 8), selbst hergestellt, also nicht geschwefelt, ergab nach dem titrimetrischen Verfahren einen Gehalt von 3,2 mg SO_2. Wie man sieht, ist bei so kleinen Werten Vorsicht geboten und die nachfolgende gewichtsanalytische Bestimmung ergibt ja auch nur einen Wert von 1,1 mg SO_2. Dieselben Unregelmäßigkeiten treten auch beim Haasschen Verfahren auf, wo man sie aber nicht sofort erkennen kann, wie es beim titrimetrischen mit anschließendem gewichtsanalytischen Verfahren möglich ist. Erhält man also beim Titrieren anscheinend sehr geringe Mengen schwefliger Säure, so fällt man hinterher sofort die Schwefelsäure. — Zeigt sich dabei nur eine

Tabelle 8.

Nr.	Angewandt	Nach dem Haasschen Verfahren gefundene mg SO_2		Titrimetrisch mit vorgelegter $NaHCO_3$-Lösung gefundene mg SO_2		Gewichtsanalytisch gefundene mg SO_2 nach dem Titrieren mit $^1/_{10}$ n-HCl		Bemerkungen
		in angewandter Menge	in 100 g	in angewandter Menge	in 100 g	in angewandter Menge	in 100 ccm	
1	100 g zerkleinerte Ringäpfel	—	—	3,2		Beim Fällen entstand nur eine schwache Trübung, die 1,1 mg ergab		nicht geschwefelt
2	100 g zerkleinerte Ringäpfel, dem Handel entnommen, mit SO_2 behandelt	6,7	6,7	7,0	7,0	6,6	6,6	sehr wenig geschwefelt
3	50 g zerkleinerte, mit SO_2 behandelte Ringäpfel	95,5	191,0	96,9	193,8	95,5	191,0	Durch einstündiges Schwefeln erhielt die Probe den abnorm hohen Gehalt an SO_2
4	20 g zerkleinerte, mit SO_2 behandelte Ringäpfel	—	—	36,2	—	37,8	—	
5	100 g im Handel käufliche Gelatine	48	48	40	40	38,8	38,8	

schwache Trübung, so deutet der Titrationswert höchstens auf Spuren schwefliger Säure, wenn man ihn nicht besser völlig vernachlässigt. Für Versuch 2—4 wurde die Handelsware noch verschieden lange mit schwefliger Säure behandelt. Doch wurde bereits in einer Stunde ein enorm hoher Gehalt an schwefliger Säure erzielt, obwohl die geschwefelten Ringäpfel darauf 2 Tage auf Papier ausgebreitet lagen und dann 14 Tage in einer Papiertüte aufbewahrt wurden. Sie rochen erfrischend; freie schweflige Säure war kaum mehr festzustellen, so daß die gefundene Menge fast ganz als gebundene schweflige Säure anzusehen ist.

Nr. 5 in Tab. 8 zeigt eine Bestimmung von Gesamtschwefligersäure in gebleichter Gelatine, worauf das titrimetrische Verfahren also auch anwendbar ist. Da nach

Lange (7) und Alexander (12) mit Recht die Befürchtung nahe liegt, daß bei Ausführung der alten Haasschen Methode durch das vorgelegte Jod auch andere schwefelhaltige Stoffe, die leicht mit übergehen, oxydiert werden und den Gehalt an schwefliger Säure zu hoch erscheinen lassen, so erscheint hier das titrimetrische Verfahren besonders geeignet.

Das Bicarbonat wird durch die störenden schwefelhaltigen Stoffe nicht beeinflußt. Versuch Nr. 5 zeigt auch, wie zu erwarten war, daß der Wert nach der Haasschen Methode nicht unerheblich größer ist. Bei der gewichtsanalytischen Bestimmung nach der Titration wird dieser Fehler vermieden, weil das zugesetzte Wasserstoffsuperoxyd die die Bicarbonatlösung trübenden und teilweise flockigen schwefelhaltigen Bestandteile nicht oxydiert und diese sich beim Kochen bald mit Wasserdampf verflüchtigen, sodaß die Lösung wieder völlig klar wird. Mehrere andere Versuche bewiesen gleichfalls, daß gerade für Gelatine das titrimetrische Verfahren von besonderem Wert ist, um richtige Zahlen zu erhalten.

Die Bestimmungen wurden in der Weise gemacht, daß 50 g Gelatine im Literkolben mit 750 ccm ausgekochtem Wasser übergossen, ca. $^1/_2$ Stunde quellen gelassen und darauf auf dem Wasserbad mäßig bis zur klaren Lösung erwärmt wurden. Dann wurde Bicarbonatlösung vorgelegt, 50 ccm Phosphorsäure zugegeben, sofort der Kolben an den Destillationsaufsatz angeschlossen und $1^1/_4$ Stunde destilliert und das Destillat mit einigen ccm 30 % H_2O_2-Lösung versetzt. Nach dem Aufkochen kühlt man ab und titriert mit $^1/_{10}$ n-HCl zurück.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Abänderung des Haasschen Verfahrens zur Bestimmung der gesamtschwefligen Säure in organischen Stoffen angegeben. Die neue Methode setzt an Stelle der gewichtsanalytischen Schwefelsäurebestimmung in dem nach Haas erhaltenen Destillat ein Titrationsverfahren, indem die überdestillierende schweflige Säure in Natriumbicarbonatlösung aufgefangen, dort mit Wasserstoffsuperoxyd oxydiert und der Überschuß an Natriumbicarbonat mit Salzsäure unter Anwendung von Methylorange als Indikator zurücktitriert wird. Dieses Verfahren erlaubt dazu, die durch Oxydation mittels Wasserstoffsuperoxyd in Schwefelsäure übergeführte schweflige Säure noch anschließend gewichtsanalytisch durch Fällung als Bariumsulfat zu bestimmen.

2. Verluste durch Oxydation der schwefligen Säure treten während des Destillierens auch bei dem alten Haasschen Verfahren nicht ein, wenn auf den Kohlensäurestrom verzichtet wird. Wohl aber ist es wahrscheinlich, daß eine geringe Oxydation bei Erwärmung der zu destillierenden Flüssigkeit stattfindet, die schwer ausgeschaltet werden kann. Wichtig ist, daß Verdünnungen der zu destillierenden Flüssigkeit stets mit Wasser, das von Luftsauerstoff befreit ist, vorgenommen werden.

3. Durch Anwendung eines Kohlensäurestromes in Verbindung mit einem langen Kühlrohr ist es möglich, flüchtige schwache organische Säuren, die in großer Menge im Destillat stören würden, im Destillationskolben fast ganz zurückzuhalten, ohne die Austreibung der schwefligen Säure zu beeinträchtigen. Dies ist bei der Anwendung der Methode für Wein wichtig.

4. Die Methode wurde zur Bestimmung der gesamtschwefligen Säure in Sulfitzelluloseablauge und letztere enthaltendem Abwasser sowie in einzelnen Proben Wein, Dörrobst, Gelatine angewendet. Dabei wurden gleich gute Resultate in weit kürzerer Zeit erhalten, als durch das Haassche Verfahren. Bei Gelatine ergibt die neue Methode richtige Werte, weil das nach der Destillation zugefügte Wasserstoffsuperoxyd die zum Teil flockig ausgeschiedenen schwefelhaltigen Stoffe nicht oxydiert; sie verflüchtigen sich überdies mit dem Wasserdampf beim folgenden Kochen. Das Haassche Verfahren ergibt dagegen zu hohe Werte, weil die vorgelegte Jodlösung die schwefelhaltigen, mit überdestillierenden organischen Substanzen gleichfalls oxydiert und dadurch den Sulfatwert erhöht.

Vorstehende Arbeit wurde im Frühjahr 1920 im Hygienischen Laboratorium des Reichsgesundheitsamts ausgeführt.

Literatur.

1. Haas, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 15, 1882, S. 154.
2. Kerp u. Wöhler, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 32, S. 130.
3. Kerp, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 21, S. 169.
4. H. Schmidt, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 21, S. 233.
5. W. Lange, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 32, S. 144.
6. Franz u. Sonntag, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 28, S. 231.
7. W. Lange, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 32, S. 148.
8. Craig Journ. Soc. Chem. Ind. 38, S. 96.
9. Legler, Pharmaz. Zentralbl. 1905, Nr. 14, S. 271—273.
10. Förster, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 40, 1914, S 468.
11. E. Heinze, Journ. f. prakt. Chemie. Bd. 99, S. 109.
12. Alexander, Journ. Amer. Chem. Soc. 29, 1907, S. 763—785.
13. Lange, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt 1909, Bd. 32, S. 147.

Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife.

III. Mitteilung: Kresotinsaure Salze als Lösungsmittel für das Kresol.

Von

Dr. rer. nat. E. Hailer,
Regierungsrat im Reichsgesundheitsamte.

Die Versuche, über die nachstehend berichtet werden soll, hatten — wie die in den beiden vorhergehenden Mitteilungen beschriebenen Untersuchungen — als Ziel, zum Ersatz der Kresolseife für die Zwecke der Militärverwaltung und tunlichst auch für die allgemeine Desinfektion ein brauchbares Kresolpräparat zu gewinnen. Hinsichtlich der Art und des Zweckes der Verwendung durch die militärischen Stellen waren dabei besondere Verhältnisse zu berücksichtigen.

Die Anforderungen, die seitens der Militärverwaltung gestellt wurden, waren folgende:

1. das Mittel sollte möglichst 50 % Kresol enthalten, um beim Transport tunlichst wenig unnützes Gewicht zu haben,
2. es sollte sich mit Wasser unschwer und ohne weitere Vorbereitungen, wie Neutralisieren, Anschütteln, zu gebrauchsfertigen Lösungen verdünnen lassen und zwar sollten mehrere Kubikmeter Lösung in großen Becken auf einmal damit hergestellt werden können,
3. die damit hergestellten Lösungen sollten innerhalb von 2 Stunden Keime von der Resistenz der Staphylokokken, aber auch Läuse und Nisse sicher abtöten,
4. die Verdünnungen für den Gebrauch sollten weder saure noch alkalische Reaktion haben, um Stoffe, Leder und Metalle nicht zu schädigen,
5. die Verdünnungen sollten sich ohne Änderung des Verhaltens und Minderung der Wirkung auf 40—50° erwärmen lassen,
6. das Präparat sollte ohne Entmischung längere Lagerung auch bei strenger Kälte im Winter ertragen,
7. es sollte aus Ausgangsstoffen herstellbar sein, die zu jeder Zeit und in ausreichender Menge beschaffbar waren und für andere Zwecke nicht gebraucht wurden,

8. es durfte nicht teuer sein, da es in großen Mengen beim Feldheer und in der Heimat gebraucht wurde.

Öle, Fette und Harze, mit denen sich allenfalls auch in sparsamerer Weise als beim offizinellen Liquor cresoli saponatus brauchbare Kresolpräparate hätten darstellen lassen, waren nicht verfügbar und alkalische Lösungen — s. I. Mitteilung[1]) — der Schädigungen wegen nicht anwendbar. Von der Verwendung neutralisierter Verdünnungen von Kresollaugen, wie sie in der II. Mitteilung[2]) beschrieben sind, wollte die Militärverwaltung absehen, weil dieses Verfahren einen solchen Grad von Sorgfalt und von Intelligenz erfordere, wie er bei dem ausführenden Personal nicht immer vorausgesetzt werden könne.

Die Aufgabe, nach verfügbaren anderen Lösungsmitteln zu fahnden, war erschwert durch die Materialknappheit, die sich schon im 2. Kriegsjahr geltend machte, und besonders stark dadurch, daß auch viele aus inländischem Material herstellbare und früher unbegrenzt vorhandene Produkte der chemischen Großindustrie, wie Alkohole, Säuren, Chlor, Kohlenwasserstoffe usw. für die Zwecke der Rüstungsindustrie in großem Maßstab gebraucht wurden und daher für sanitäre Aufgaben nicht in dem erforderlichen Umfange zur Verfügung standen.

Der nächstliegende Weg, zu einem brauchbaren Kresolpräparat zu gelangen, schien über das hydrindensulfosaure Natrium zu führen, das auf Veranlassung von Paul im Kaiserlichen Gesundheitsamte durch Kraus geprüft[3]) und als vorzügliches Lösungsmittel für Rohkresol erwiesen worden war. Die dem Kresol eigene Desinfektionswirkung wird durch den Zusatz dieses Salzes im Vergleich mit rein wässerigen Lösungen von Rohkresol gegenüber Staphylokokken gar nicht, gegenüber Milzbrandsporen nur unwesentlich herabgesetzt und ist merklich stärker als die von Verdünnungen des offizinellen Kresolseifenpräparats bei gleichem Gehalt an Kresol. Indessen war das Hydrinden, das Ausgangsmaterial für die Darstellung des Salzes, bis dahin in der Technik nicht in größerem Maßstab aus dem Teeröl gewonnen worden; seine Isolierung hätte umfangreiche und längere Zeit in Anspruch nehmende Neuanlagen in den Fabriken nötig gemacht; auch war es zweifelhaft, ob es sich in einer für diesen Bedarf ausreichenden Menge und zu einem annehmbaren Preis hätte herstellen lassen. Von der Verwendung dieses Präparats war also abzusehen.

Bei systematischen Versuchen fanden sich dann eine ganze Reihe von Salzen organischer Säuren, mit denen brauchbare Kresolpräparate herzustellen waren. Über die eingeschlagenen Wege, die dargestellten Mittel und ihre Eigenschaften wird in einer späteren Mitteilung ausführlich berichtet werden. Ihre Darstellung während des Krieges scheiterte fast durchweg daran, daß die Ausgangsmaterialien selbst oder die zu ihrer Verarbeitung zu dem fertigen salzartigen Lösungsmittel gebrauchten Stoffe für diese Zwecke nicht verfügbar waren.

So war es schließlich nötig, auf Verbindungen zurückzukommen, die zwar schon bei den ersten von mir zu diesem Zweck angestellten Versuchen geprüft, aber nicht

[1]) Hailer, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 51, S. 556, 1919.
[2]) Hailer, ebenda Bd. 52, S. 253, 1920.
[3]) A. Kraus, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 26, S. 130, 1907.

weiter verfolgt worden waren, weil sich die gewünschten Eigenschaften in noch höherem Maße bei anderen Stoffen fanden, und die auch schon seit sehr langer Zeit zur Darstellung eines Kresolpräparats, des Solveols, in der Technik Verwendung gefunden hatten. Diese Verbindungen waren die Salze der Kresotinsäuren.

Die kresotinsauren Salze werden hergestellt aus Kresol, Kohlensäure und Natriumhydroxyd, also Stoffen, die auch während des Krieges verhältnismäßig leicht beschaffbar waren und blieben. Die Darstellung der Salze geschieht nach dem Kolbeschen Verfahren für die Salizylsäure-Gewinnung, bei der Karbolsäure, Kohlensäure und Natriumhydroxyd als Ausgangsmaterialien verwendet werden. Da Salizylsäure nach diesem Verfahren in mehreren Fabriken und in großem Maßstab hergestellt wird, waren auch die maschinellen Anlagen für die Gewinnung der kresotinsauren Salze verfügbar.

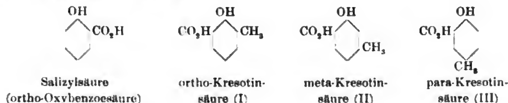
Von den zahlreichen möglichen Isomeren dieser Methylphenyl-oxy-karbonsäuren entsteht nach der Kolbeschen Synthese

aus ortho-Kresol die 2-Oxy-meta-toluylsäure (ortho-Homosalizylsäure oder Beta-Kresotinsäure), (I),

aus meta-Kresol die 3-Oxy-p-toluylsäure (meta-Homosalizylsäure oder Gamma-Kresotinsäure) (II) und

aus para-Kresol die 4-Oxy-meta-toluylsäure (para-Homosalizylsäure oder Alpha-Kresotinsäure) (III)

bezw. die Natriumsalze dieser Säuren.



Salizylsäure (ortho-Oxybenzoesäure) — ortho-Kresotinsäure (I) — meta-Kresotinsäure (II) — para-Kresotinsäure (III)

In der Technik haben sich statt dieser Bezeichnungen der Einfachheit halber die Namen ortho-, meta- bezw. para-Kresotinsäure eingebürgert. Wird statt der reinen drei isomeren Kresole das aus den Teeröl-Destillationen stammende Rohkresol, das ein Gemisch der drei Isomeren ist, angewandt, so erhält man bei der Synthese nach Kolbe ein Gemisch der Natriumsalze der drei isomeren Säuren; aus dem Kresol, das der Vorschrift der 5. Ausgabe des Deutschen Arzneibuchs entspricht, erhält man ein Gemisch, das vorwiegend aus der Gamma- und Alpha- bezw. meta- und para-Kresotinsäure besteht.

Die Natriumsalze dieser drei isomeren Säuren unterscheiden sich nicht unwesentlich durch ihre Löslichkeit in Wasser: 10 g destilliertes Wasser lösen etwa 7,5 g ortho-kresotinsaures Natrium, 4 g der meta- und 2,5 g der para-Verbindung; das ortho-kresotinsaure Natrium ist also das in Wasser weitaus am leichtesten lösliche der drei Natriumsalze. Die Calciumsalze der drei Kresotinsäuren sind leicht in Wasser löslich; es entstehen also auch in hartem Wasser bei Zugabe der Natriumsalze keine Niederschläge.

Ebenso wie durch die Löslichkeit in Wasser unterscheiden sich die drei isomeren Natriumsalze auch im Lösungsvermögen für Kresol nicht unwesentlich; es lösten nämlich bei Anwendung von je 50 ccm 0,8 molarer 0,3 molarer Lösung

	0,8 molarer Lösung	0,3 molarer Lösung
das ortho-kresotinsaure Natrium	61,6	1,5
„ meta- „ „	43	1,4
„ para- „ „	40,8	1,25

ccm Kresol nach D. A. B. 5. Ausg.

In molaren Lösungen ist das Lösungsvermögen des ortho-kresotinsauren Natriums für Kresol unbeschränkt; in schwächeren als 0,3 molaren Lösungen sind die Unterschiede nicht mehr so ausgesprochen. Das Lösungsvermögen für Rohkresol ist demnach bei der ortho-Verbindung gleichfalls am größten, bei der para-Verbindung am geringsten. Bei den Gemischen der isomeren kresotinsauren Natriumsalze, die aus Rohkresol bei der Kolbeschen Synthese erhalten werden, schwankt daher Löslichkeit in Wasser und Lösungsvermögen für Kresol je nach dem Gehalt des Rohkresols an den drei isomeren Kresolen. Von derartigen Salzgemischen, die mir von der Technik zur Verfügung gestellt waren, zeigten denn auch einige ein ganz befriedigendes Verhalten bei der Prüfung auf Leichtlöslichkeit und Lösungsvermögen, andere genügten den Ansprüchen weniger gut und erwiesen sich für die Darstellung von Kresolpräparaten ungeeignet.

Auch sechs im Laboratorium aus den reinen drei isomeren Salzen dargestellte Gemische zeigten um so bessere Lösungswirkung für Rohkresol, je reicher sie an dem Natriumsalz der ortho-Kresotinsäure waren.

Natürlich ist es wünschenswert, ein immer gleichmäßiges Präparat zu erhalten, um so mehr als die Ansprüche durch die Forderung 50 % Kresol enthaltender Zubereitungen ziemlich hochgespannt waren.

Da das Natriumsalz der ortho-Kresotinsäure die günstigsten Eigenschaften hinsichtlich Löslichkeit und Lösungsvermögen für Rohkresol zeigte, andererseits das ortho-Kresol, das zu seiner Herstellung dient, in dem Cresolum crudum der 5. Ausgabe des Deutschen Arzneibuchs nur in geringen Mengen enthalten sein soll und daher bei dessen Herstellung als Nebenprodukt abfällt und aus Rohkresol nach dem Verfahren von Raschig leicht und billig in reinem Zustand gewonnen werden kann, war es das Gegebene, das ortho-kresotinsaure Natrium als Lösungsmittel für Kresol zu verwenden.

Bei der Leichtlöslichkeit des ortho-kresotinsauren Natriums lassen sich 50 % Kresol enthaltende Zubereitungen mit einem Gehalt bis zu 25 % an ortho-kresotinsaurem Natrium herstellen. Diese Mischung zu 2 % in Wasser eingetragen, löst sich darin schnell und klar bei etwas Umrühren oder Umschütteln zu einer 1 % Kresol enthaltenden Lösung auf. Dagegen bedürfen 4 Teile des Präparats auf 96 Teile Wasser eines längeren, etwa 1—2 Minuten währenden Umschüttelns oder Rührens, um sich völlig zu lösen; immerhin geht die Lösung rascher von statten als die von 5 Teilen acidum carbolicum liquefactum auf 95 Teile Wasser zu der üblichen 5 %igen Karbolsäurelösung. Man kann aber ohne merkbare Verschlechterung der Löslichkeit den

Gehalt an ortho-kresotinsaurem Natrium auf 20 % verringern. Nach zahlreichen Versuchen ist dieses aus 20 Teilen ortho kresotinsauren Natriums, 30 Teilen Wasser und 50 Teilen Arzneibuchkresol bestehende Präparat von der Militärverwaltung für die Desinfektion und Entlausung gewählt und unter dem Namen „Kresotin-Kresol" (richtiger wäre die Bezeichnung „Kresotinat-Kresol") von mehreren Fabriken hergestellt und in großen Mengen verwendet worden.

Das Kresotin-Kresol.

Das Kresotin-Kresol hat frisch hergestellt die Farbe des verwendeten Rohkresols und färbt sich erst beim Stehen an der Luft allmählich dunkler. In einer Kältemischung scheidet es etwas Salz aus, das aber bei der Entfernung aus der Kältemischung von selbst, ohne daß eine besondere Erwärmung nötig wäre, wieder in Lösung geht, so daß die Gefahr der Entmischung bei niederer Temperatur nicht besteht. Die Verdünnungen des Präparats reagieren neutral und werden durch Erwärmen nicht verändert oder in der Wirkung geschädigt. Da das kresotinsaure Salz bei stärkerer Verdünnung Kohlenwasserstoffe nicht mehr so gut in Lösung zu halten vermag wie Seife, muß darauf geachtet werden, daß die zur Herstellung des Kresotin-Kresols dienenden Rohkresole streng den Anforderungen der 5. Ausgabe des Deutschen Arzneibuchs entsprechen und höchstens ganz geringe Mengen von Naphthalin und anderen Kohlenwasserstoffen enthalten. Derartige Kohlenwasserstoffe scheiden sich bei Verwendung unreinen Rohkresols bei Darstellung der Verdünnungen von Kresotin-Kresol an der Flüssigkeitsoberfläche als Öltropfen aus oder beziehen die Wände des Gefäßes mit einem schmierigen Belag; die Ausscheidungen nehmen dabei wohl meist noch etwas Kresol in sich auf, so daß sich die Öltropfen dunkel färben.

Es wird in der Literatur mehrfach erwähnt, daß das Kresotin-Kresol nicht bis zu 4 %, also bis zu 2 % Kresolgehalt in Wasser klar löslich gewesen sei, indem sich nämlich schon vor Erreichung dieser Konzentration ölige Tropfen aus der Flüssigkeit abgeschieden hätten. Auch ich habe während meiner militärischen Verwendung in der Technik hergestellte Proben des Mittels gesehen, deren Löslichkeit nicht ganz befriedigte. Dieses störende Verhalten findet sich bei dem vorschriftsmäßig hergestellten Präparat nicht, sondern rührt von der Verwendung mangelhafter d. h. reichlich Kohlenwasserstoffe enthaltender Ausgangsmaterialien bei der technischen Gewinnung her.

Mit dem Gemisch kresotinsaurer Salze, wie es aus technischem Rohkresol erhalten wird, läßt sich nicht in jedem Falle eine Lösung in dem Verhältnis 20 Teile Salz : 30 Wasser : 50 Kresol herstellen; die wenigen Präparate, bei deren Anwendung in diesem Mischungsverhältnis keine völlige Lösung des Salzes eintrat, enthielten vermutlich größere Mengen des schwer löslichen Natriumsalzes der para-Kresotinsäure. Außerdem aber entsprachen solche aus dem Salzgemisch hergestellte Zubereitungen von Kresotin-Kresol in der Leichtlöslichkeit des Kresols in Wasser nicht den Anforderungen, die an das einwandfreie Kresotin-Kresol gestellt wurden. Bei dem weniger befriedigenden Verhalten der aus Rohkresolen hergestellten Kresotinsäuregemische, empfahl es sich trotz der zu erwartenden geringen Verbilligung daher nicht, das Salz der ortho-Kresotinsäure durch das Gemisch der Salze der drei isomeren Säuren zu ersetzen.

Dagegen schien es mir des Versuches wert, festzustellen, ob die Herstellung des ortho-kresotinsauren Natriums nicht vereinfacht werden könne.

Aus dem Reaktionsgemisch von ortho-Kresol, Kohlensäure und Natriumhydroxyd wird nämlich in den Fabriken gewöhnlich die Kresotinsäure durch Mineralsäure ausgeschieden, dann wieder durch entsprechenden Zusatz von Soda in das Salz übergeführt und dessen Lösung mit einer der Zusammensetzung des Präparats entsprechenden Menge Kresol und gegebenenfalls Wasser versetzt. Nun enthält das ursprüngliche Reaktionsgemisch des Kresols mit Kohlensäure und Natriumhydroxyd schon kresotinsaures Natrium, aber verunreinigt durch einen Gehalt von Kresolnatrium, das mit der Kohlensäure nicht in Reaktion getreten ist, von Soda und Kohlenwasserstoffen, die aus dem verwendeten ortho-Kresol stammen, bei Anwendung eines reinen Rohkresolpräparats aber nur in minimalen Mengen vorhanden sind. Wenn man daher das Natriumsalz der ortho-Kresotinsäure unmittelbar, ohne vorhergehende Ausfällung und Wiederlösung verwenden könnte, würde ein ziemlicher Aufwand von Säure und Soda, zweien im Kriege gleichfalls zu sparenden Stoffen, überflüssig werden. Man könnte dies leicht erreichen, indem durch Zusatz von freier Kresotinsäure das Kresol-Natrium und die Soda zersetzt und so kresotinsaures Salz und freies Kresol hergestellt würden und indem ferner zur Entfernung der Kohlenwasserstoffe und etwaiger bei der Reaktion entstandener Nebenprodukte eine Zeitlang Wasserdampf durch das Reaktionsgemisch geleitet würde. Bei diesem Verfahren würde allerdings ein Teil der Materialersparnis durch vermehrten Aufwand für die Arbeit aufgewogen werden, so daß es sich nicht so sehr um die Erzielung einer Ersparnis im kaufmännischen Sinne handelte; der volkswirtschaftliche Gewinn durch die Säure- und Soda-Ersparnis hätte aber doch wohl für seine Einführung gesprochen.

Von einzelnen Fabriken, die diesen Vorschlägen entsprechend Versuche anstellten, erhielt ich Proben solcher Produkte der Darstellung des ortho-kresotinsauren Natriums in verschiedenen Stadien der Reinigung und fand die aus dem Rohprodukt hergestellten Zubereitungen von Kresotin-Kresol wegen ihres Gehalts an schmierigen Stoffen nicht ohne Bedenken verwendbar. Dagegen standen die mit besser gereinigtem Reaktionsprodukt hergestellten Zubereitungen höchstens darin den ganz reinen Präparaten etwas nach, daß sie beim Verdünnen mit Wasser schwach rötlich gefärbte Lösungen gaben. Inwieweit dann in der Technik das kresotinsaure Salz für die Kresotin-Kresol-Darstellung im großen diesen Vorschlägen entsprechend hergestellt worden ist, wurde mir nicht bekannt.

Ein Präparat, bei dem die Löslichkeit des Kresols in kresotinsauren Salzen Anwendung findet, ist, wie erwähnt, schon lange bekannt. Nachdem Hüppe[1]) und Hammer[2]) Lösungen von Kresol in kresotinsauren Salzen auf ihr Keimtötungsvermögen geprüft hatten, ohne nähere Angaben über die Zusammensetzung der Lösungen zu machen, kam unter dem von Hüppe vorgeschlagenen Namen „Solveol" eine Lösung von Kresol in kresotinsauren Salzen in den Handel. Nach Angaben in

---

[1]) Hüppe, Berl. klin. Wochenschr. 1893, S. 495.

[2]) Hammer, Arch. f. Hyg. 12, S. 359, 1891; 14, S. 116, 1892.

der Literatur enthält dieses Präparat 27 % Kresol und als Lösungsmittel dafür 25 % kresotinsaure Salze.

Der Preis des Solveols betrug vor dem Kriege nach einer Preisliste der Firma Gehe vom Jahre 1910 bei Abnahme in Ballons 2,50 M. für das Kilogramm ohne Verpackung, das Kilogramm Kresol in Form von Solveol bezogen, kostete also etwa 10 M. Der verhältnismäßig geringe Gehalt des Präparats an Kresol und der hohe Preis schlossen eine militärische Verwendung des Solveols aus. Im Jahre 1914 kostete dagegen nach der Preisliste der Firma Riedel 1 kg Kresolseife D.A.B. Ausg. 5 ohne Verpackung bei Abnahme im Ballon 80 Pfg., das Kilogramm Kresol demnach 1,60 M. Der Preis des Kresotin-Kresols wechselte etwas, er betrug im Jahre 1918, so viel mir bekannt ist, etwas über 2 M. für das Kilogramm, also etwas über 4 M. für das Kilogramm Kresol, dessen Preis gegenüber dem Friedenspreis zu dieser Zeit schon erheblich gestiegen war.

In einer größeren Zahl von Versuchen wurde geprüft, ob das Kresotin-Kresol in kalten und warmen Lösungen Gegenstände bei der Desinfektion nicht nachteilig beeinflußt (Punkt 4 der Anforderungen). Die 2 % Kresol enthaltenden Verdünnungen von Kresotin-Kresol üben auf militärische Ausrüstungsstücke aus Leder, ferner Sohlen- und Oberleder und auf feldgraues und gefärbtes Militärtuch keine nachteilige Wirkung aus. Da die Lösungen neutral reagieren, werden auch Metalle nicht angegriffen.

Nachdem die übrigen gestellten Bedingungen hinsichtlich der Zusammensetzung, des chemischen Verhaltens, der Beschaffbarkeit und des Preises, sowie der Unschädlichkeit für das Desinfektionsgut in dem Kresotin-Kresol erfüllt waren, mußte schließlich noch das Keimtötungsvermögen und die Einwirkung auf Läuse und Nisse geprüft werden (Punkt 3 der Anforderungen).

Die bakteriologischen Versuche wurden wie bei den Feststellungen des Keimtötungsvermögens alkalischer und rein wässeriger Kresollösungen, die in den beiden vorhergehenden Mitteilungen behandelt sind[1]), mit verschiedenen Keimarten ausgeführt. Die meisten Versuche wurden aber mit den gegen Kresol ziemlich widerstandsfähigen Staphylokokken angestellt und zwar wurden meist mehrere Stämme von ausgesuchter Resistenz für die Abtötungsversuche verwendet. Die frisch und mit wenig sterilem Leitungswasser abgeschwemmten Agarkulturen wurden filtriert und über die früher beschriebenen Battiststückchen ausgegossen; sie blieben, um eine gute Durchdringung und reichliche Aufnahme der Keime durch das Gewebe zu erreichen, etwa ½ Stunde lang in Berührung damit. Die einzelnen Stückchen wurden dann mit ausgeglühten Pinzetten mit Platinschuhen entnommen und abgezählt in Schalen mit den zu prüfenden Lösungen übergossen. Nach bestimmten Zeiten aus den desinfizierenden Lösungen entfernt, wurden sie mit je einem ccm Wasser mit geringem Alkaligehalt zur Entfernung des anhaftenden Kresols betropft und in Bouillon verimpft. Das etwaige Wachstum der Keime, auf das die Versuchsreihen von Tag zu Tag durchgesehen wurden, machte sich dabei meist erst am zweiten und dritten Tage bemerkbar;

[1]) Hailer, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte, Bd. 51, S. 556, 1919 u. Bd. 52, S. 253, 1920.

nach dem fünften Tage war selten noch ein Eintreten von Wachstum festzustellen. Zur Identifizierung der gewachsenen Keime wurden Ausstriche der Bouillonkulturen auf Agarplatten angelegt.

Zunächst war festzustellen, ob das Keimtötungsvermögen des Kresols durch den Zusatz von kresotinsaurem Salz beeinflußt, also gesteigert oder geschwächt wird, oder ob es unverändert bleibt.

Es ist bekannt, daß Zusatz einzelner anorganischer Salze, namentlich von Kochsalz, die desinfizierende Wirkung von Karbolsäure und auch von Kresol erhöht. Andererseits ist eine Steigerung des Keimtötungsvermögens des Kresols durch Seifen, also fettsaure Salze, wie sie von manchen Autoren beobachtet wurde, von anderen bestritten worden und auch die Versuche von Kraus[1]) nach der sehr genaue Ausschläge gebenden Krönig- und Paulschen Methode zeigten gegenüber Staphylokokken eine geringe, gegenüber Milzbrandsporen eine erhebliche Überlegenheit der rein wässerigen Kresollösungen gegenüber den Verdünnungen von Kresolseifenlösung bei gleichem Kresolgehalt.

Die Vorfrage dazu war: wirken die kresotinsauren Salze nicht an sich bactericid?

Die Kresotinsäuren sind unter den aromatischen Oxykarbonsäuren die nächst höheren Homologen der Salizylsäure und der ihr isomeren Oxybenzoesäuren, von denen die Salizylsäure trotz ihrer geringen Löslichkeit in Wasser ziemlich stark keimtötende Wirkung hat; auch dem Natriumsalz der Salizylsäure wird vielfach eine antiseptische und bactericide Kraft zugeschrieben. Es war daher nicht ausgeschlossen, daß auch den kresotinsauren Salzen selbst eine gewisse Wirkung gegenüber Bacterien zukommt und daß das Kresotin-Kresol daher als eine Kombination zweier Desinfektionsmittel wirken würde.

Wie sich bei Versuchen mit verschiedenen Stämmen von Staphylokokken und Typhusbacillen zeigte — siehe Tab. 1 (S. 678) — haben die Natriumsalze der Kresotinsäuren nur eine geringe keimtötende Wirkung; von den 3 Isomeren wirkt noch am stärksten das Natriumsalz der ortho-Kresotinsäure, das in 5prozentiger Lösung einen Staphylokokkenstamm in 5 Stunden, von 3 Typhusstämmen den einen in 90, den 2. in 60, den 3. in 40 Minuten abtötete. Das Natriumsalz der meta-Kresotinsäure stand in der Wirkung gegenüber Typhusbacillen erheblich hinter der ortho-Verbindung zurück, das der para-Kresotinsäure zeigte überhaupt keine Wirkung. Das salizylsaure Natrium hatte in 5- und 10prozentiger Lösung auf Staphylokokken und Typhusbacillen in 5 bezw. 3 Stunden nicht abtötend gewirkt.

Das an sich sehr geringe Keimtötungsvermögen macht sich daher erst bei Konzentrationen von ortho-kresotinsaurem Natrium bemerkbar, die bei der praktischen Anwendung des Kresotin-Kresols nicht in Betracht kommen; denn in 4prozentigen, d. h. 2 % Kresol enthaltenden Verdünnungen dieses Präparats sind nur 0,8 % kresotinsaures Natrium enthalten.

Über den Einfluß steigender Zusätze von ortho-kresotinsaurem Natrium zu Kresollösungen wurden zweimal zwei parallele Versuchsreihen in der Weise angestellt, daß mit

[1]) Kraus, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 26, 1907.

Tabelle 1.

Einwirkung von Salzen der Kresotinsäuren und Salizylsäure in verschiedenen Konzentrationen auf Staphylokokken und Typhusbacillen an Batiststückchen.

Natriumsalz der	Bei der Konzentration von %	Angewandte Bakterien-Art und Stamm	Wachstum nach einer Einwirkung von Minuten															
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	150	180	210	240	270	300
ortho-Kresotinsäure . .	5	Staphyl. G						+	+	+		+	+	+	+	—	+	—
„ „ . .	5	„ H u. U						+		+		+	+	+	+	+		
meta- „ . .	5	„ G						+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
para- „ . .	5	„ „						+	+	+		+	+	+	+	+	+	+
Mischung der 3 Kresotinsäuren	5	„ G, H u. U			+			+		+		+	+	+				
ortho-Kresotinsäure . .	5	Typhus II	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—						
meta- „ . .	5	„ II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
para- „ . .	5	„ II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
ortho- „ . .	5	Typhus IV	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—						
meta „ . .	5	„ IV	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+						
para- „ . .	5	„ IV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—						
ortho- „ . .	5	Typhus Mg	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—						
para- „ . .	5	„ „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
meta „ . .	5	„ „	+	+	+	—	+	+		—	—	—						
Salizylsäure	5	Staphyl. II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„	10	„ „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
„	5	Typhus II	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+				
„	10	„ II	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+				

denselben Abschwemmungen von zwei bezw. drei verschiedenen Staphylokokkenstämmen sowohl Batiststückchen imprägniert als auch verdünnte Suspensionen hergestellt wurden (die Reihen Ia und b, IIa und b in Tab. 2, S. 679 und 680). Die Batiststückchen wurden wie gewöhnlich nach Abspülen in Bouillon verimpft, von den Suspensionen wurde eine Öse auf Traubenzucker-Schrägagar ausgestrichen.

Eine dritte Versuchsreihe auf dieser Tabelle (Reihe III) ist mit 2 Staphylokokken- und einem Paratyphus-B-Stamm an Batiststückchen angestellt.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen stimmen nicht ganz untereinander überein; während Reihe IIa einen Einfluß der steigenden Konzentrationen von kresotinsaurem Salz in einer Verminderung der keimtötenden Wirkung zeigt, tritt in den Versuchen Ia und III eine derartige Einwirkung nicht deutlich hervor. Auch in den Versuchen mit Suspensionen ist eine Steigerung oder Verminderung des Keimtötungsvermögens von 0,6- bezw. 0,75prozentigen Kresollösungen durch den Salzzusatz nicht deutlich erkennbar, woran aber auch die entwicklungshemmende Wirkung des kresotinsauren Natriums beteiligt sein kann.

Tabelle 2.

Einfluß steigender Zusätze von ortho-kresotinsaurem Natrium auf das Keimtötungsvermögen von Kresol-Lösungen.

Konzentration der Lösung an: Kresol %	Konzentration der Lösung an: kresotinsaurem Natrium %	Keim- und Versuchsart	Wachstum nach einer Einwirkungszeit in Minuten: 10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	Versuchsreihe
1,0	—	Staphylokokken Wo und N an Batiststückchen	+	—	—	—	—	—	—	—			Ia
1,0	0,1		—	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,25		+	+	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,33		+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,5		—	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,75		—	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	1,0		+	+	—	—	—	—	—	—			
1,0	2,0		+	+	—	—	—	—	—	—			
0,75	0	Staphylokokken Wo und N in Suspension	—	—	—	—	—	—	—	—			Ib
0,75	0,1		—	—	—	—	—	—	—	—			
0,75	0,2		—	—	—	—	—	—	—	2 Kol.			
0,75	0,3, 0,5 0,75		—	—	—	—	—	—	—	—			
0,75	1,0		++	—	—	—	—	+	—	—			
1,0	0	Staphylokokken Wo, N und Z an Batiststückchen	+	+	+	+	—	—	—	—			IIa
1,0	0,1		+	+	+	—	—	—	—	—			
1,0	0,2		+	+	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,33		+	+	+	—	—	—	—	—			
1,0	0,5		+	+	+	+	—	—	—	—			
1,0	0,75		+	+	+	—	+	—	—	—			
1,0	1,0		+	+	+	+	+	+	+	—			
1,0	2,0		+	+	+	+	+	+	+	—			
0,6	0	Staphylokokken Wo, N und Z in Suspension (s. Anmerkung 1)	+++	—	—	—	—	—					IIb
0,6	0,1		—	—	—	—	—	—					
0,6	0,25		6	—	—	—	—	—					
0,6	0,33		+++	4	—	—	—	—					
0,6	0,5		+++	+++	++	++	1	—					
0,6	1,0		++	—	—	—	—	—					
0,6	2,0		+++	9	1	—	—	—					

1) +++ bei den Ausstrichen auf Schrägagar bedeutet, daß nach fünftägiger Bebrütung ein dichter Rasen entstanden war, ++ daß zahlreiche einzelne Kolonien gewachsen, + daß zwischen 20 und 50 Kolonien zu zählen waren; bei geringerer Kolonienzahl ist deren Anzahl angegeben.

Fortsetzung von Tabelle 2.

Konzentration der Lösung an Kresol %	Konzentration der Lösung an kresotinsaurem Natrium %	Keimart und Stamm	Wachstum nach einer Einwirkungszeit in Minuten 10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	Versuchsreihe
		Versuche an Batist:											
1,0	0	Staphylokokken B	+	—	—	—	—	—	—	—			
		„ H	+	+	+	—	+	—	—	—			
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,05	Staphylokokken B	+	+	+	—	—	—	—	—			
		„ H	+	+	—	—	—	—	+	—			
		Paratyphus B	+	+	+	+	—	—	—	—			
1,0	0,1	Staphylokokken B	+	—	—	—	—	—	—	—			
		„ H	+	+	—	—	—	+	—	—			
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,2	Staphylokokken B	+	+	+	+	—	—	—	—			
		„ H	+	+	+	+	—	—	+	—			
		Paratyphus B	+	+	+	—	—	—	+	—			
1,0	0,25	Staphylokokken B	+	—	—	—	—	—	—	—			
		„ H	—	+	+	—	—	—	—	—			III
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	0,5	Staphylokokken B	+	+	—	—	—	—	—	—			
		„ H	+	+	—	+	—	—	—	—			
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	1,0	Staphylokokken B	+	+	—	—	—	—	—	—			
		„ H	+	+	+	—	+	—	—	—			
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	1,5	Staphylokokken B	+	+	—	+	—	+	—	—			
		„ H	+	+	+	+	—	—	—	—			
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			
1,0	2,0	Staphylokokken B	+	+	—	—	—	+	—	—			
		„ H	+	+	+	—	+	+	—	—			
		Paratyphus B	+	—	—	—	—	—	—	—			

Jedenfalls ist die Wirkung des Salzzusatzes nach keiner Richtung hin eine ausgesprochene und ins Gewicht fallende. Das aus 20 Teilen ortho-kresotinsauren Natriums, 50 Teilen Rohkresol und 30 Teilen Wasser bestehende Kresotin-Kresol wurde nun bei Anwendung verschiedener Konzentrationen in mehreren hundert Versuchsreihen auf sein Keimtötungsvermögen geprüft. Diese Lösungen von Kresotin-Kresol für diese Versuche wurden aus verschiedenen Sorten von Handelskresol, die alle den Ansprüchen der 5. Arzneibuchausgabe entsprachen, und verschiedenen Lieferungen von kresotinsauren Salzen hergestellt; verwendet wurden dazu sowohl Präparate reinen ortho-kresotinsauren Natriums, wie sie aus dem Präparatenhandel bezogen und von chemischen Fabriken zur Verfügung gestellt wurden, als auch nach

dem oben beschriebenen vereinfachten Verfahren ohne Ausfällung der Säure technisch dargestelltes Salz in verschiedenen Reinheitsgraden und schließlich auch einige Darstellungen von Gemischen der drei isomeren Salze, wie sie aus Rohkresol nach dem Kolbeschen Verfahren erhalten werden, gleichfalls in verschiedenen technischen Reinheitsgraden. Geprüft wurden diese Präparate an 14 verschiedenen Staphylokokkenstämmen, die teils feucht, teils angetrocknet an Batiststückchen verwendet wurden, mehreren Typhus-, Paratyphus-B- und Pyocyaneus-Stämmen.

In den meisten Versuchsreihen wurde die Wirkung der Kresotin-Kresol-Verdünnungen mit der rein wässeriger Lösungen von Kresol bei gleichem Kresolgehalt und der von 2,5 % Kresol enthaltenden Kresolseifeverdünnungen verglichen.

Die Wiedergabe der zahlreichen Versuchsreihen würde zu weit führen; es ist daher in der Tab. 3 (S. 682 u. 683) als Beispiel nur eine Reihe von Endergebnissen der Versuche mit verschiedenen Konzentrationen an 11 Staphylokokkenstämmen in der Weise zusammengestellt, daß meist zur vergleichsweisen Beurteilung der Wirkung angegeben ist, in welcher Zeit eine rein wässerige Kresollösung von gleichem Gehalt an Kresol oder eine 2,5 prozentige Kresolseifenverdünnung unter denselben Umständen die gleichen Testobjekte abtötete. Die in einem Rechteck der Tab. 3 untereinander stehenden Zahlen bedeuten also die Ergebnisse gleichzeitiger und paralleler Versuchsreihen, während die nebeneinander stehenden Rechtecke Versuchsreihen darstellen, die wohl mit demselben Staphylokokkenstamm, aber meist an verschiedenen Tagen und mit verschiedenen Zubereitungen von Kresotin-Kresol angestellt wurden.

Aus der Zusammenstellung der Versuchsergebnisse in Tabelle 3 läßt sich folgendes entnehmen:

1. Ein wesentlicher Einfluß der angewandten Kresolsorte oder des Präparats von kresotinsaurem Salz war nicht festzustellen; auch die Zubereitungen von Kresotin-Kresol, die mit dem Gemisch der drei isomeren Salze oder mit nur technisch reinen Präparaten dargestellt waren, zeigten etwa gleiches Keimtötungsvermögen wie das aus reinstem Material dargestellte Kresotin-Kresol.

2. Die Verdünnungen von Kresotin-Kresol erwiesen sich teils etwas stärker teils etwas schwächer, oft auch gleich stark keimtötend wie die rein wässerigen Kresollösungen von gleichem Kresolgehalt; nur selten sind die Unterschiede der parallelen Versuchsreihen etwas größer. In der größeren Zahl von Fällen haben indes die Verdünnungen von Kresotin-Kresol eine etwas stärkere Wirkung, als die rein wässerigen Kresollösungen.

3. Dagegen ist der Unterschied zwischen 1 % Kresol enthaltenden Verdünnungen von Kresotin-Kresol und 2,5 % enthaltenden Verdünnungen der offizinellen Kresolseife — an deren Stelle in einzelnen Fällen auch ein Lysolpräparat aus der Friedenszeit verwendet wurde — oft ein sehr großer und zwar erwies sich das Kresotin-Kresol bei der hier angewandten Prüfungsmethodik den Verdünnungen von Kresolseife überlegen.

In einer späteren Mitteilung wird auf das Keimtötungsvermögen von Kresolseife-Präparaten noch näher eingegangen werden. Hingewiesen sei hier nur darauf, daß die angewandte Batiststückchen-Methode eine Endmethode ist, d. h. daß der

Tabelle 3.

Zusammenstellung der Versuche mit verschiedenen Zubereitungen von Kresotin-Kresol, rein wässerigen Kresollösungen und Verdünnungen von Kresolseife in verschiedenen Konzentrationen an 11 Staphylokokkenstämmen.

Staphylokokkenstamm	Konzentration an Kresol	Angewandtes Mittel	Abtötungszeit in Minuten															
H	1,0	Kresotin-Kresol	20	40	20	50	10	30	40	40	40	60	50	75	120	20		
	1,0	Wässerige Lösung	10	30	20	30	10	30	>60	60	40					50		
	2,5	Kresolseife										>120	>120	>120	>120	>120		
H trocken	1,0	Kresotin-Kresol	20	10	40	30	10	10	45	15	20	20						
	1,0	Wässerige Lösung	30	30	40	30	15	25										
U	1,0	Kresotin-Kresol	30	40	20	20	10	20	20	15	10	10	10	20	40	60	20	60
	1,0	Wässerige Lösung	20	30	40	20	20	50	30	30	25							60
	2,5	Kresolseife										>120	>120	>120	>120	>120	10	>120
U trocken	1,0	Kresotin-Kresol	30	30	30	25	40	30	20	40	20	20	10	15	30	45		
	1,0	Wässerige Lösung	50	50	50	45	45	30	15									
	2,5	Kresolseife								50	50	120						
G	1,0	Kresotin-Kresol	50	30	40	40	20	20	50									
	1,0	Wässerige Lösung	30	75	40	30	40	30	20									
	2,5	Kresolseife																
G trocken	1,0	Kresotin Kresol	20	20	10	15	15											
	1,0	Wässerige Lösung	20	20	10													
	2,5	Kresolseife				60												
F	1,0	Kresotin-Kresol	45	45	30	30	105	40	50	105	30							
	1,0	Wässerige Lösung	45	20	30	20												
	2,5	Kresolseife					120	90	90	120								
F trocken	1,0	Kresotin-Kresol	40	50	50	30	35											
	1,0	Wässerige Lösung				20	10											
	2,5	Kresolseife	90	90	90													
I	1,0	Kresotin-Kresol	15	20	25	75	90	30	20	20								
	1,0	Wässerige Lösung	60	10	30													
	2,5	Kresolseife				>120	>120											
B	1,0	Kresotin Kresol	20	20	50	50	60	50										
	1,0	Wässerige Lösung	60	60	50	>120												
	2,5	Kresolseife																
S	1,0	Kresotin-Kresol	30	5	15	5	20											
	1,0	Wässerige Lösung					30											
	2,5	Kresolseife	105				50											
T	1,0	Kresotin Kresol	50	30	15	10	10	30										
	1,0	Wässerige Lösung						105										
	2,5	Kresolseife	>120	>120				120										

Fortsetzung von Tabelle 3.

Staphylokokkenstamm	Konzentration an Kresol	Angewandtes Mittel	Abtötungszeit in Minuten										
A	1,0	Kresotin-Kresol	10	10									
	2,5	Kresolseife	30	30									
D	1,0	Kresotin-Kresol	30										
	2,5	Kresolseife	105										
C	1,0	Kresotin-Kresol	50	30									
	1,0	Wässerige Lösung	120	75									
	2,5	Kresolseife		)120									
H	1,25	Kresotin-Kresol	20	10	10	trocken:		20	5	30			
	1,25	Wässerige Lösung	20	20	10			15	20	10			
U	1,25	Kresotin-Kresol	30	10	5	trocken:		)40	40	35			
	1,25	Wässerige Lösung	20	5	10			)40	35	40			
F	1,25	Kresotin-Kresol	10	10	10								
	1,25	Wässerige Lösung	35	10	30								
I	1,25	Kresotin-Kresol	25	20	40								
	1,25	Wässerige Lösung	40	30	40								
H	1,5	Kresotin-Kresol	4	14	2	trocken:		14	12	12			
	1,5	Wässerige Lösung	8	4	2			10	10	14			
U	1,5	Kresotin-Kresol	12	)20	6	trocken:		20	10	18	)30	26	8
	1,5	Wässerige Lösung	)20	8	10			)20	18	)20	20		
F	1,5	Kresotin-Kresol	12	4	)20	10	10	trocken:	18	18			
	1,5	Wässerige Lösung	)20	20	)20	8			12	8			
I	1,5	Kresotin-Kresol	8	4	14	12	8	4					
	1,5	Wässerige Lösung	20	4	4								
C	1,5	Kresotin-Kresol	14	8	8								
S	1,5	" "	6	6	2								
T	1,5	" "	4	10	10								
H	2,0	Kresotin-Kresol	2	4	4	trocken.		2	2	2			
	2,0	Wässerige Lösung	)10	2	)10			10	2	4			
U	2,0	Kresotin-Kresol	10	10	6	trocken:		18	14	40			
	2,0	Wässerige Lösung	)10	2	2			)40	16	40			
F	2,0	Kresotin-Kresol	)10	)10	)10								
	2,0	Wässerige Lösung	)10	)10	)10								
I	2,0	Kresotin-Kresol	10	8	10								
	2,0	Wässerige Lösung	)10	10	10								

Versuchsausfall durch die resistentesten Keime bestimmt wird, indem ein einziger überlebender Keim in der Bouillon ebenso Wachstum hervorbringen kann, wie tausende nicht abgetöteter Bakterien. Diese Methode ist für diesen Zweck mit Absicht gewählt worden und es wurde durch Verwendung sehr dichter Keimaufschwemmungen zur Imprägnierung der Batiststückchen noch besonderer Wert darauf gelegt, in jedem Falle möglichst viele Keime der Behandlung auszusetzen und in die Bouillon zu verimpfen[1]).

4. Die Widerstandsfähigkeit desselben Staphylokokkenstammes schwankt sehr stark bei Anwendung an verschiedenen Tagen, bei Stamm H und U z. B. um ein Vielfaches; einige andere Stämme, z. B. F und G, erhielten ihre Resistenz in der Versuchszeit mit geringeren Schwankungen auf einer mittleren Höhe.

5. Antrocknung der Staphylokokken hat in diesen Versuchen weder eine Erhöhung noch eine Verminderung der Widerstandsfähigkeit zur Folge; nur bei ziemlich konzentrierten und rasch wirkenden Lösungen erfolgte die Abtötung trockener Keime meist etwas später als die feuchter, vermutlich weil eine gewisse Zeit nötig ist, um die Bakterienzelle durch Quellung wieder zur Aufnahme des Giftes fähig zu machen, während von feuchten Keimen das Kresol unmittelbar aufgenommen wird.

6. Im Durchschnitt wurde die Abtötung der Staphylokokken durch 1%ige Kresollösungen in 20—30 Minuten bewirkt. Steigerung der Konzentration auf 1,25, 1,5 und 2,0 % Kresol beschleunigte die Wirkung der Verdünnungen von Kresotin-Kresol, weniger die von rein wässerigen Kresollösungen noch etwas, indes keineswegs regelmäßig. Für die meisten Desinfektionszwecke erwies sich also auch hier, wie bei der Prüfung rein wässeriger Kresollösungen[2]) eine 1% Kresol enthaltende Verdünnung von Kresotin-Kresol als ausreichend.

Ein späterer Versuch, in dem die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Kresol bei Anwendung verschiedener Kresolpräparate gegenüber einem Gemisch von drei Staphylokokkenstämmen an Batiststückchen geprüft wurde, ist ausführlich in Tabelle 4 (S. 685) wiedergegeben. Es wurden nämlich verwendet rein wässerige Lösungen von Kresol, Verdünnungen von Kresotin-Kresol-Präparaten, die aus reinen Materialien im Laboratorium und fabrikmäßig hergestellt waren, diese je von einem Kresolgehalt von 0,75, 1,0 und 1,25%, und Verdünnungen der offizinellen Kresolseife (DAB. 5. Ausgabe) und von einer älteren Zubereitung von Lysol der Firma Schülke und Mayr, diese zu je 0,75, 1,0, 1,25, 2,0 und 2,5% Kresol.

Bei Anwendung der rein wässerigen Lösungen und der Kresotin-Kresol-Verdünnungen lag das Optimum der Wirkung, wie schon öfters aber nicht regelmäßig beobachtet wurde — s. die II. Mitteilung — bei einem Kresolgehalt von 1%; 0,75%ige Lösungen wirkten durchweg schwächer, 1,25%ige nicht sicher stärker, bei rein wässeriger Lösung vielmehr auch hier ausgesprochen schwächer. Die Wirkung von Verdünnungen der Kresolseifenpräparate erwies sich in diesen Versuchen gleichfalls geringer als die der wässerigen Kresollösungen. Während 1%ige wässerige Kresollösungen

[1]) Die nächste (IV.) Mitteilung wird sich mit dieser Methodik im Vergleich mit anderen eingehender befassen.

[2]) s. II. Mitteilung Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 52, S. 253, 1920.

Tabelle 4.

Vergleichsweise Prüfung von mehreren Kresolkonzentrationen in rein-wässeriger Lösung, in Verdünnungen von Kresotin-Kresol und Kresolseife-Präparaten gegenüber einem Gemisch von drei Staphylokokkenstämmen (Wo, N, Z) an Batist.

°/₀ Kresol	in Form von	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten													
		30	40	50	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210
0,75	in wässeriger Lösung	+	+	+	−	−	−	−	−						
1,0	" " "	−	+	−	−	−	−	−	−						
1,25	" " "	+	−	−	+	+	−	−	−						
0,75	Kresotin-Kresol eigener Darstellung	−	+	−	−	−	+	−	−						
1,0		+	−	−	−	−	−	−	−						
1,25		−	−	+	−	−	−	−	−						
0,75	Kresotin-Kresol Merck	−	+	+	−	−	−	+	−						
1,0		−	−	−	−	−	−	−	−						
1,25		−	−	−	−	−	−	−	−						
0,75	Kresolseife DAB. 5. A.								+	+	−	+	+	−	+
1,0									+	−	−	+	+	+	−
1,25					+	+	−	+	+	+	−	+	+		
2,0		+	+	−	−	+	+	−	−						
2,5		+	−	−	−	+	−	+	−						
0,75	Lysol Schülke & Mayr (Gehalt zu 50 °/₀ Kresol berechnet)								+	+	+	+	+	+	+
1,0									+	+	+	+	+	+	−
1,25					+	+	+	−	−	+	+	+	+		
2,0		+	+	+	+	−	+	+	+						
2,5		+	−	−	+	−	+	−	−						

und die Verdünnungen von Kresotin Kresol bei gleichem Kresol-Gehalt die Staphylokokken in längstens 50 Minuten abgetötet hatten, brauchten die Verdünnungen der Kresolseife-Präparate bei gleichem Kresolgehalt dazu länger als 195 Minuten. Ihre Verdünnungen mit einem Gehalt von 2,0 und 2,5 °/₀ Kresol erwiesen sich auch hier als schwächer wirksam als die 1 °/₀igen Kresollösungen aus Kresotin-Kresol. Die Reihen sind, was auch bei anderen Prüfungen von Kresolseife-Zubereitungen beobachtet wurde, ziemlich unregelmäßig.

Auch diese Versuche ergaben somit, daß die Verdünnungen von Kresotin-Kresol den rein wässerigen Lösungen von Kresol in der keimtötenden Wirkung nicht nachstehen und die der Verdünnungen von Kresolseife-Präparaten bei gleichem und höherem Kresolgehalt bei Anwendung dieser Methode nicht unwesentlich übertreffen.

Außer zur Vernichtung von infektiösen Keimen an Ausrüstungsstücken sollte das Kresotin-Kresol auch zur Läusebekämpfung Verwendung finden. Es wurde daher in Verdünnungen von verschiedenem Kresolgehalt und bei verschiedenen Temperaturen gegenüber Läusen und Nissen erprobt und zeigte dabei etwa gleiche

Wirkung wie rein wässerige Kresollösungen von gleichem Gehalt und gleicher Temperatur und entsprechende Verdünnungen der Kresolseife. Die Nissen erwiesen sich nicht resistenter als die geschlechtsreifen Tiere. Ausführlicher wird über diese Versuche in einer anderen Veröffentlichung[1]) berichtet.

Schließlich war es der Militärverwaltung von Wert, zu erfahren, ob und in welchem Grade sich durch Anwendung warmer Lösungen eine Verringerung der Konzentration und damit eine Ersparnis von Kresol erreichen läßt. Es wurden daher Versuche über das Keimtötungsvermögen von Kresollösungen, die aus Kresotin-Kresol dargestellt waren, bei etwa 30, 40 und 50° angestellt und zwar gleichzeitig und mit denselben Testobjekten, wie bei den Versuchen mit Kresollösungen, die durch Neutralisieren von Kresollaugenverdünnungen durch Säure hergestellt waren[2]). Die Versuche bei diesen Temperaturen mit verschiedenen Kresolkonzentrationen und unter Anwendung von verschiedenen Staphylokokkenstämmen und von Typhus-, Paratyphus-B- und Pyocyaneus-Kulturen sind in den Tabellen 5 und 6 ausführlich wiedergegeben; die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen sind in der Tabelle 7 zusammengestellt, in der zum Vergleich auch die Ergebnisse der parallelen Versuche mit den erwähnten wässerigen Kresollösungen mitaufgeführt wurden.

Bei 30° werden Staphylokokken durch 0,6 % Kresol enthaltende Verdünnungen von Kresotin-Kresol fast durchweg in weniger als 40 Minuten abgetötet und Typhus-, Paratyphus-B- und Pyocyaneus-Bacillen in der gleichen Zeit durch 0,5 % Kresol enthaltende Verdünnungen. Gegenüber demselben Stamme und in demselben Versuche sind die Unterschiede der verschiedenen Konzentrationen meist nicht erheblich. Für die praktische Anwendung würden 0,6 % Kresol enthaltende Verdünnungen von Kresotin-Kresol bei einer Temperatur der Lösung von 30° daher völlig ausreichen.

Vergleicht man, in welchen Konzentrationen die wässerigen Kresollösungen mit ihrem geringen von der Neutralisation des Kresolalkalis herrührenden Salzgehalt auf dieselben Testobjekte abtötend wirkten — Tab. 7 —, so zeigt sich, daß bei niederen Kresolkonzentrationen die Verdünnungen von Kresotin-Kresol fast durchweg etwas rascher die Keime abtöteten, als die wässerigen Kresollösungen, daß sich aber von 0,6 % Kresol ab die Unterschiede bei den beiden Lösungen mehr ausgleichen.

Durch eine Steigerung der Temperatur auf 40° wird bei diesen Kresotin-Kresol-Verdünnungen keine so wesentliche Steigerung der Wirkung erreicht, daß die Konzentration auf 0,5 % herabgesetzt werden dürfte; es spricht dagegen der Ausfall der erstaufgeführten Versuche mit den Stämmen B, T und H bei einer Temperatur der Lösung von 39,5°, in denen Abtötung der Staphylokokken durch 0,5 % Kresol enthaltende Verdünnungen nicht unterhalb von 90 Minuten erzielt wurde. Typhus-, Paratyphus- und Pyocyaneus-Bacillen wurden bei dieser Temperatur dagegen schon durch 0,25 Kresol enthaltende Verdünnungen des Präparats in weniger als 40 Minuten abgetötet.

---

[1]) Hailer, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 52, S. 278, 1920.
[2]) s. Hailer, II. Mitteilung, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte Bd. 52, S. 253, 1920.

Tabelle 5.

Einwirkung verschieden starker Verdünnungen von Kresotin-Kresol bei 30° auf Staphylokokken und andere Keime.

Temperatur	Bakterienart und Stamm	% Kresol	Wachstum nach einer Einwirkung von Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
29,5°	Staphylokokken H	0,6	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,7	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	" B	0,6	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
		0,7	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		0,8	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—
	" T	0,6	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,7	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,8	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30,5°	" B	0,5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		0,6	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
		0,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	" C	0,5	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
		0,6	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
		0,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	" U	0,5	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,6	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,75	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30°	" B	0,5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		0,6	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		0,75	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	" C	0,5	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
		0,6	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,75	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—
	" U	0,5	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,6	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		0,75	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
30°	Tyhus II	0,25	+	+	+	—	—	—				
		0,4	+	+	+	—	—	—				
		0,5	+	+	—	—	—	—				
	Paratyphus B L	0,25	+	+	+	+	+	+				
		0,4	+	+	+	—	—	—				
		0,5	+	+	+	—	—	—				
	Pyocyaneus	0,25	+	+	+	+	+	—				
		0,4	+	—	+	+	—	—				
		0,5	—	—	—	—	—	—				

Tabelle 6.

Einwirkung verschieden starker Verdünnungen von Kresotin-Kresol bei 40 und 50° auf Staphylokokken und andere Keime.

Temperatur	Bakterienart und Stamm	Kresolkonzentration %	Wachstum nach einer Einwirkung von Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
39,5°	Staphylokokken B	0,4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		0,5	+	+	+	–	–	–	+	–	–	–
	" T	0,4	+	+	+	+	+	+	–	+	–	–
		0,5	+	+	+	–	+	–	+	–	+	–
	" H	0,4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
		0,5	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–
40°	" B	0,4	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–
		0,5	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–
		0,6	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
	" C	0,4	+	–	+	–	–	–	+	+	+	+
		0,5	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
		0,6	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–
40°	" B	0,4	+	+	+	+	+	–	–	–	+	–
		0,5	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
		0,6	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	" C	0,4	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
		0,5	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
		0,6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	" U	0,4	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		0,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		0,6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
40°	Typhus II	0,25	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Paratyphus B	0,25	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–
	Pyocyaneus	0,25	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
48,5°	Staphylokokken H	0,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		0,2	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		0,3	+	+	+	+	–	–	–	+	–	–
		0,4	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
	" U	0,1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		0,2	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+
		0,3	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–
		0,4	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–
47°	" B	0,25	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
		0,3	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
	" T	0,25	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
		0,3	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	" H	0,25	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
		0,3	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
	" U	0,25	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
		0,3	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–

Tabelle 7.

Zusammenstellung der Ergebnisse aus Tabelle 5 und 6 über das Keimtötungsvermögen verschieden starker wässeriger Kresotin-Kresol-Verdünnungen zugleich mit Angabe des Keimtötungsvermögens wässeriger Kresollösungen unter den gleichen Verhältnissen der Temperatur und Konzentration.

Temperatur	Konzentration %	Lösung	Staphylokokken										Typhus	Paratyphus B	Pyocyaneus
			B			C		H		T	U				
30°	0,25	Kresotin-Kresol											40	>60	60
		Wasser											>60	>60	>60
	0,4	Kresotin-Kresol											40	40	20
		Wasser											40	20	10
	0,5	Kresotin-Kresol	40	40		50	90				30	20	30	40	10
		Wasser	>120	50		90	105				50	40	40	40	10
	0,6	Kresotin-Kresol	40	40	40	30	10	20		20	30	30			
		Wasser	50	40	20	20	20	20		40	20	60			
	0,70	Kresotin-Kresol	40					30		10					
		Wasser	20					10		40					
	0,75	Kresotin-Kresol	30	10		30	10				30	20			
		Wasser	10	30		20	10				20	40			
	0,8	Kresotin-Kresol	40					10		20					
		Wasser	20					10		20					
40°	0,25	Kresotin-Kresol											20	20	20
		Wasser											35	25	20
	0,4	Kresotin-Kresol	>120	60	60	>120	40	120		105	90	20			
		Wasser	105	90	90	50	30	60		120	90	30			
	0,5	Kresotin-Kresol	40	20	40	30	30	90		120	105	10			
		Wasser	75	90	50	30	20	50		75	20	10			
	0,6	Kresotin-Kresol	40	20		50	40				10				
		Wasser	40	20		20	20				10				
50°	0,1	Kresotin-Kresol						>120			>120				
		Wasser						>120			>120				
	0,2	Kresotin-Kresol						20			>120				
		Wasser						>120			>120				
	0,25	Kresotin-Kresol	75					75		75	40				
		Wasser	>120					60		75	50				
	0,3	Kresotin-Kresol	75					50	40	50	30	30			
		Wasser	60					50	40	60	40	30			
	0,4	Kresotin-Kresol						30			10				
		Wasser						20			10				

Auch bei den wässerigen Kresollösungen — Tab. 7 — erwiesen sich 0,5 % Kresol enthaltende neutralisierte Laugen-Verdünnungen als unzureichend und zu sicherer Wirkung die Anwendung von 0,6 %igen Kresollösungen erforderlich.

Bei Lösungen von etwa 50° C wirkten Verdünnungen mit einem Kresolgehalt von 0,3 % und weniger nicht durchaus befriedigend auf Staphylokokken; dagegen erscheinen 0,4 % Kresol enthaltende Verdünnungen von Kresotin-Kresol von ausreichendem Keimtötungsvermögen bei dieser Temperatur zu sein — s. Tab. 6 untere Hälfte —. Das gleiche war der Fall bei den wässerigen Kresollösungen, die aus verdünnten Kresollaugen durch Neutralisieren erhalten wurden — s. Tab. 7 —.

Verglichen mit der Steigerung des Keimtötungsvermögens mancher anderer Desinfektionsmittel z. B. von Säuren und Laugen durch Temperaturerhöhung, ist die Erhöhung der Wirkung von Kresollösungen nicht bedeutend. Denn es wirken in etwa gleichen Zeiten abtötend auf resistente Staphylokokken an Batiststückchen: 0,6 % Kresol enthaltende Lösungen bei 30 und 40° und 0,4 % enthaltende Lösungen bei 50°.

Dieser Unterschied in der Steigerung des Keimtötungsvermögens von Säuren und Laugen einerseits und Kresollösungen andererseits unter dem Einfluß von Temperaturerhöhung spricht für eine verschiedene Wirkungsweise der beiden Gruppen von Desinfektionsmitteln.

Auf den Einfluß der Temperaturerhöhung auf die Abtötungsgeschwindigkeit von Kresollösungen wird in einer späteren Mitteilung nochmals ausführlicher eingegangen werden und zwar wird dann die Wirkung verschiedener Kresollösungen von gleichem Kresolgehalt bei verschiedenen Temperaturen geprüft werden, während in den hier erwähnten Versuchen festgestellt wurde, welche Kresolkonzentrationen bei verschiedenen Temperaturen für praktische Zwecke ausreichend auf vegetative Keime abtötend wirkten.

Versuche mit einigen anderen Kombinationen von kresotinsauren Salzen und Kresol.

Kresotin-Kresol, das speziell für die besonderen Zwecke der militärischen Verwendung zusammengestellt wurde, läßt sich, wie erwähnt, zwar leichter zu gebrauchsfertigen 1 % Kresol enthaltenden Lösungen verdünnen, als Acidum carbolicum liquefactum zu 3- und 5 %igen Phenollösungen; aber die Herstellung der Verdünnungen erfordert doch eine gewisse Aufmerksamkeit und Sorgfalt von dem Desinfektor, der das Präparat in das Wasser langsam und unter Umrühren einfließen lassen soll. Diesen Mangel hat das Kresotin-Kresol jedoch mit der Karbolsäure und mit allen gegenwärtigen Ersatzpräparaten für die Kresolseife gemein, deren leichte Löslichkeit in Wasser und Mischbarkeit in allen Verhältnissen von keinem der Präparate erreicht wird.

Da mit der Verwendung von Kresolpräparaten auch durch ungeschulte Hände und mit einer Nichtbeachtung der Lösungsvorschrift zu rechnen ist, wurden Versuche unternommen, unter Verwendung von ortho-kresotinsaurem Natrium oder dem Gemisch der drei isomeren Salze Kresolpräparate zu erhalten, die dieser Forderung noch besser gerecht werden, als das Kresotin-Kresol.

Da Kresol in diesen Lösungen mit geringem Gehalt an Salzen organischer Säuren etwa ebenso stark keimtötend wirkt, wie in rein wässerigen und bei einem Gehalt von 1 % ausreichende Desinfektionswirkung hat, brauchten die Zubereitungen nicht unbedingt 50 % Kresol zu enthalten. Es lassen sich ja aus 1 Liter der offizinellen Kresolseife 20 Liter der zur Desinfektion in den meisten Fällen üblichen 2,5 % Kresol enthaltenden Verdünnung herstellen, aus 1 Liter Kresotin-Kresol aber 50 Liter der 1 % Kresol enthaltenden Lösung. Wenn sich daher etwa ein 50 % Kresol enthaltendes und dabei noch etwas leichter als Kresotin-Kresol in Wasser lösliches Ersatzpräparat für die Kresolseife auch nicht herstellen lassen würde, so bedeutete es immer noch eine wesentliche Ersparnis an Gewicht und Transportkosten, wenn ein solches Präparat mit nur 40 % Kresol gewonnen würde, denn damit ließen sich immer noch — die ausreichende Wirkung 1 % Kresol enthaltender Verdünnungen vorausgesetzt — 40 Liter 1 %iger Kresollösung darstellen.

Unter den vielen Kombinationen von kresotinsauren Salzen, Kresol und Wasser in verschiedenen Verhältnissen und bei Anwendung von verschiedenen Darstellungen von kresotinsauren Salzen und Handelsmarken von Rohkresol (nach der Vorschrift der 5. Arzneibuchausgabe) haben sich schließlich zwei besonders bewährt:

Präparat A, das aus 30 Gewichtsteilen ortho-kresotinsauren Natriums, 50 Gewichtsteilen Rohkresol und 30 Teilen Wasser besteht und in 100 Raumteilen etwa 50 Gewichtsteile Rohkresol enthält, und

Präparat U, das aus 32 Gewichtsteilen des Salzes, 40 Gewichtsteilen Rohkresol und 37 Teilen Wasser dargestellt wird und in 100 Raumteilen etwa 40 Gewichtsteile Rohkresol enthält.

Das reine ortho-kresotinsaure Natrium läßt sich dabei ersetzen durch das technisch gereinigte Rohprodukt der Kolbeschen Synthese aus ortho-Kresol, Natriumhydroxyd und Kohlensäure, wie es in dem ersten Teil dieser Mitteilung beschrieben ist, und durch die meisten Darstellungen der aus Rohkresol erhaltenen Gemische der drei isomeren Salze, wenn auch im letzteren Fall die Leichtlöslichkeit öfters merklich hinter derjenigen der aus reinem ortho-kresotinsaurem Natrium hergestellten Zubereitungen zurücksteht.

Wie bei allen Ersatzpräparaten für Kresolseife ist es auch bei diesen Präparaten A und U nötig, die kresolhaltige Zubereitung in die ganze zur Verdünnung bestimmte Wassermenge unter Rühren einzutragen und nicht umgekehrt das Wasser zu der abgemessenen Menge Kresolpräparat zuzugießen. Da die Präparate nicht in jedem Verhältnis in Wasser klar löslich sind, entstehen bei dem letzteren Vorgehen nämlich ölig-tropfige Ausscheidungen von Kresol, die schwerer in Lösung gehen, als wenn das Kresol in dünnem Strahl zum Wasser zugegeben wird. Auch das nur 27 % Kresol enthaltende Solveol ist übrigens nicht in jedem Verhältnis klar in Wasser löslich, sondern es entstehen bei gewissen Verhältnissen zwischen Wasser und Solveol auch trübe Lösungen, die sich beim Stehen tropfig entmischen.

Werden von den Präparaten A und U die zur Darstellung 1 %iger Kresollösungen erforderlichen Mengen, nämlich

von Präparat A 2 Raumteile in 98 Teile Wasser
„ „ U 2 „ „ 78 „ „

unter Umrühren und in dünnem Strahl eingetragen, so entsteht bei Präparat U fast sofort, bei Präparat A nach kurzem Umrühren eine klare und durchsichtige Kresollösung. Auch 2 % Kresol enthaltende Verdünnungen lassen sich leicht herstellen, am besten, indem man zunächst die Hälfte der berechneten Menge des Präparats unter Umrühren löst, also eine 1 % Kresol enthaltende Verdünnung herstellt, und dann die zweite Hälfte auf die gleiche Weise zugibt.

Die Präparate sind ohne Ausscheidungen haltbar; drei Jahre alte derartige Zubereitungen waren zwar dunkel gefärbt worden, aber klar und gaben noch ebenso rasch 1 und 2 % Kresol enthaltende Verdünnungen, wie frisch hergestellte. Nur die Farbe der Verdünnung war etwas dunkler und in Wasser bildeten sich einige braune Öltröpfchen, wie sie auch beim Lösen anderer alter, wässeriger Kresolpräparate, u. a. auch von Kresotin-Kresol erhalten werden.

Diese Präparate sind mit Wasser bis zu einem Kresolgehalt von 16 % bei A und 10 % bei U klar mischbar, dann folgt bei weiterer Verdünnung eine Zone der Trübung und Ausscheidung, die aber schon bei einem Kresolgehalt von über 2,5 % durch Rühren wieder in Lösung zu bringen ist. Indessen ist es, wie erwähnt, weit vorzuziehen, die Verdünnungen durch Eintragen des Präparats in Wasser und nicht umgekehrt herzustellen. Es lassen sich so bis über 2,5 % Kresol enthaltende Kresollösungen bereiten.

Es war nun die Frage, ob die 1 % Kresol enthaltenden Verdünnungen auch dieser Präparate A und U ausreichend stark keimtötend wirken oder ob Lösungen mit höherem Kresolgehalt angewandt werden müssen.

Es wurden daher mit Zubereitungen dieser Präparate, die aus verschiedenen Ausgangsmaterialien hergestellt waren, in 1,5, 1,25 und 1,0 % Kresol enthaltenden Verdünnungen Keimtötungsversuche an 6 Staphylokokken-, je 2 Typhus- und Paratyphus-B-Stämmen und einem Pyocyaneusstamm angestellt. Eine der Versuchsreihen ist in Tabelle 8 ausführlich wiedergegeben. Darnach hat es keinen Zweck, stärkere als 1 % Kresol enthaltende Verdünnungen für einfache Desinfektionszwecke — Oberflächendesinfektion usw. — anzuwenden, da diese Lösungen auch auf resistente Keime, wie Staphylokokken, schon ausreichend stark wirken, und die Wirkung unter diesen Umständen durch Erhöhung der Konzentration nicht mehr wesentlich weiter gesteigert wird, sich vielmehr — übereinstimmend mit früheren Versuchen — dabei öfters als geringer ergab. Die Typhus- und Paratyphusbacillen sowie Bacterium pyocyaneum erwiesen sich übrigens gleichfalls als recht resistent gegen Kresollösungen, wie es bei Anwendung dieser Methode auch gegenüber rein wässerigen Kresollösungen gefunden wurde (II. Mitteilung).

Die Ergebnisse einer größeren Zahl von Versuchen sind in Tabelle 9 zusammengestellt. Dabei werden auch Versuchsreihen mit aufgeführt, die mit wässerigen Kresollösungen oder 2,5 % Kresol enthaltenden Verdünnungen der Kresolseife zum Vergleich parallel damit angestellt worden sind.

Auch aus diesen zahlreichen Versuchsreihen ergibt sich, daß 1 %ige mit den Präparaten A und U hergestellte Kresollösungen ausreichend stark wirken und eine Erhöhung des Kresolgehalts für die genannten Zwecke nicht nötig ist. Ferner zeigen

Tabelle 8.

Versuche über das Keimtötungsvermögen der Präparate A und U aus kresotinsauren Salzen und Kresol.

Präparat	Bakterienart und Stamm	Kresolkonzentration %	Wachstum nach einer Einwirkung von Minuten									
			10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
A	Staphylokokken B	1,5	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
		1,25	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
		1,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
U		1,5	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
		1,25	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
		1,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
A	Staphylokokken C	1,5	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		1,25	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		1,0	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
U		1,5	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		1,25	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		1,0	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
A	Staphylokokken H	1,5	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
		1,25	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
		1,0	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
U		1,5	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
		1,25	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		1,0	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
A	Staphylokokken U	1,5	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
		1,25	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
		1,0	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
U		1,5	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—
		1,25	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		1,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
A	Typhus R	1,25	+	+	—	—	—	—	—	—		
		1,0	+	+	—	—	—	+	—	—		
U		1,25	+	+	+	+	—	—	—	—		
		1,0	+	—	—	—	—	—	—	—		
A	Typhus W	1,25	+	+	+	+	+	—	—	—		
		1,0	+	+	—	—	—	—	—	—		
U		1,25	+	+	—	—	—	—	—	—		
		1,0	+	+	+	—	—	—	—	—		
A	Paratyphus L	1,25	+	+	—	—	—	—	—	—		
		1,0	+	+	+	—	—	—	—	—		
U		1,25	+	—	+	—	—	—	—	—		
		1,0	+	+	—	+	—	—	—	—		
A	Pyocyaneus	1,25	+	+	+	+	—	—	—	—		
		1,0	+	+	+	—	—	—	—	—		
U		1,25	+	+	+	—	—	—	—	—		
		1,0	+	+	+	—	—	—	—	—		

Tabelle 9.

Zusammenstellung mehrerer Versuchsreihen mit den Präparaten A und U.

Bakterienart und Stamm	Kresol angewandt als	Kresolkonzentration %	Abtötungszeit in Minuten						Kresolkonzentration %	Abtötungszeit in Minuten		
Staphyl. B	Präparat A	1,0	75	75	50	30			1,25	30	30	105
	„ U	1,0	75	75	40	40			1,25	20	30	90
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120			>120			2,5	>120	>120	>120
Staphyl. C	Präparat A	1,0	40	40	50	20			1,25	30		
	„ U	1,0	30	30	40	30			1,25	40		
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120		60				2,5	>120		
	wässerige Lösung	1,0			60							
Staphyl. H	Präparat A	1,0	50	40	40	20	30		1,25	20	30	60
	„ U	1,0	40	10	40	40	40		1,25	20	20	40
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120	105		>120			2,5	>120	>120	>120
	wässerige Lösung	1,0		60								
Staphyl. U	Präparat A	1,0	50						1,25	60		
	„ U	1,0	75						1,25	40		
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120						2,5	>120		
Staphyl. A	Präparat A	1,0	20	40								
	„ U	1,0	30	40								
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120									
	wässerige Lösung	1,0	>120									
Staphyl. T	Präparat A	1,0	20	30								
	„ U	1,0	10	30								
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120									
	wässerige Lösung	1,0	60									
Paratyph. B (R)	Präparat A	1,0	30	10	10	10	40		1,25	10	10	50
	„ U	1,0	50	20	30	20	50		1,25	10	20	50
	Kresolseife DAB 5	2,5	>120		20	20	90		2,5	120	120	>90
Paratyph. B (L)	Präparat A	1,0	40	30	30	50			1,25	30		
	„ U	1,0	40	>60	50	20			1,25	40		
	Kresolseife DAB 5	2,5	30	30	30	>90			2,5	>90		
Typhus R	Präparat A	1,0	30						1,0	30		
	„ U	1,0	20						1,0	50		
	Kresolseife DAB 5	2,5	>90						2,5	>90		
Typhus W	Präparat A	1,0	30	40	20	10	20		1,0	70		
	„ U	1,0	40	30	20	10	10		1,0	30		
	Kresolseife DAB 5	2,5	>90	30	30	10	10		2,5	>90		
Pyocyaneus	Präparat A	1,0	40	30	10	30	10	60	1,25	50		
	„ U	1,0	40	40	30	40	20	20	1,25	40		
	Kresolseife DAB 5	2,5	>90	60	60	60	10	10	2,5	>90		

die zusammengestellten Ergebnisse, daß diese 1 %igen Kresollösungen mindestens ebenso stark keimtötend wirken, wie rein wässerige Kresollösungen und in den meisten Reihen stärker als 2,5 % Kresol enthaltende Verdünnungen der Kresolseife.

Schließlich lassen sich bei dem Vergleich der parallelen Versuchsreihen zwischen der Wirkung der Präparate A und U keine nennenswerten Unterschiede feststellen, beide Zubereitungen scheinen vielmehr bei gleichem Kresolgehalt der Verdünnungen unter Berücksichtigung der immer unregelmäßigen Versuchsergebnisse bei Versuchen mit Kresollösungen etwa gleiches Keimtötungsvermögen zu haben.

Der Preis dieser Zubereitungen würde infolge des höheren Gehalts an kresotinsaurem Salz vermutlich nicht unbedeutend höher sein, als der des Kresotin-Kresols, aber erheblich niederer als der des Solveols, dem gegenüber sie auch den Vorzug eines günstigeren Verhältnisses zwischen wirksamem Stoff und Gewicht haben. Indes wird ihre Einführung kaum mehr in Frage kommen, nachdem durch das Stilliegen der Rüstungsbetriebe wieder Stoffe frei geworden sind, mit denen sich noch billigere kresolhaltige Zubereitungen darstellen lassen.

Über Versuche mit derartigen Zubereitungen wird noch besonders berichtet werden.

Berlin-Dahlem, Mai 1920.

Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife.

IV. Mitteilung: Zur Methodik der Desinfektionswertprüfung bei Kresolen.

Von

Dr. rer. nat. E. Haller,

Regierungsrat im Reichsgesundheitsamte.

Bei vergleichenden Prüfungen von Ersatzpräparaten für die Kresolseife sind einige Autoren bei Versuchen, auf die ich an anderer Stelle noch näher eingehen werde, zu Ergebnissen gekommen, die mit den früher von mir erhobenen Befunden nach zwei Richtungen nicht übereinstimmen. Es ist nämlich gefunden worden, daß durch $^1/_2$ % Kresol enthaltende Lösungen von Kresotin-Kresol und anderen Präparaten Staphylokokken in weniger als 5 Minuten, in solchen mit 0,375 % Kresol in weniger als 35 Minuten abgetötet werden, während nach meinen früheren Feststellungen derartige Lösungen auf diese Keime nicht in mehreren Stunden wirken, deren Abtötung vielmehr erst durch 0,75 und 1,0 % Kresol enthaltende Verdünnungen in weniger als einer Stunde erzielt werden kann. Anderseits war festgestellt worden, daß zwei andere Ersatzpräparate sowie Kresolseife selbst wirksamer seien als Kresotin-Kresol, was mit meinen Erfahrungen gleichfalls nicht übereinstimmte.

Es lag nahe, die Ursache für die Differenz der Ergebnisse in der angewandten Methodik zu suchen; in meinen Versuchen war mit infizierten Batiststückchen gearbeitet worden, während andere Autoren vorwiegend Suspensionen von Keimen in der desinfizierenden Lösung verwendet haben. Bevor aber auf diesen Vergleich des Einflusses der Behandlungsart der Testobjekte eingegangen wird, sollen zunächst noch Versuche darüber Erwähnung finden, inwieweit die Art des Nährmediums die Ergebnisse beeinflußt.

Einfluß der Zusammensetzung des Nährmediums auf die Ergebnisse.

Bei der Wiederaufnahme der Versuche über Ersatzpräparate für die Kresolseife Ende des Jahres 1918 fiel es mir auf, daß die Resistenz auch frisch aus Eiter herausgezüchteter Staphylokokkenstämme gegen Kresol eine erheblich geringere war, als bei den Versuchen in den Jahren 1915 und 1916, aus welcher Zeit die in den drei ersten Mitteilungen veröffentlichten Versuche stammen.

Staphylokokken an Batiststückchen wurden nämlich in diesen neuen Versuchen durch 0,7 % Kresol enthaltende Verdünnungen von Kresotin-Kresol schon in 10 Minuten, durch 0,5 %ige in 50 Minuten, durch solche mit 0,4 % Kresol in 330 Minuten abgetötet gefunden, während früher, wie erwähnt, eine Abtötung durch 0,75 und 1 % Kresol enthaltende Lösungen erst nach Zeiten festgestellt werden konnte, die durchschnittlich 30—60 Minuten betrugen. Da auch bei der Prüfung einer größeren Zahl frischer Staphylokokkenstämme sich keiner von der früher beobachteten Widerstandsfähigkeit finden ließ, so mußte die Ursache in der verwendeten Bouillon gesucht werden, die in der Tat statt des kräftig gelben Farbtons der Bouillon aus den ersten Kriegsjahren einen erheblich blasseren hatte und in der auch die Kontrollen nicht mehr mit der früher beobachteten Intensität, sondern unter schwächerer Trübung wuchsen. Die geringere Güte der Bouillon rührte vermutlich her von der schlechteren Qualität des dem Gesundheitsamte für die Nährbodenbereitung zur Verfügung stehenden Abfallfleisches; die Güte dieses Fleisches stand wesentlich hinter der des in den Jahren 1915/16 verarbeiteten Fleisches zurück.

Die Aufbesserung des Nährwerts der Bouillon durch Zugabe von Fleischextrakt (5 g auf ein Liter) führte nicht zu viel besseren Ergebnissen. Dagegen wurde das Wachstum durch Zugabe von 3 % Traubenzucker zu der Bouillon ein viel intensiveres, es bildete sich ein dicker Bodensatz und die Abtötungszeiten wurden, wie dies die ersten vier Versuchsreihen in der Tabelle I zeigen, wesentlich hinausgeschoben, so in einem vergleichenden Versuch mit denselben imprägnierten Batiststückchen von 165 Minuten in traubenzuckerfreier Bouillon auf 255 Minuten in solcher mit Traubenzucker, aber die Resistenz der Staphylokokken gegen höhere Kresolkonzentrationen war auch bei Verwendung dieser aufgebesserten Bouillon nicht auf der alten Höhe angelangt. Ein Zusatz von nur 1 % Traubenzucker verbesserte die minderwertige Bouillon nicht wesentlich.

Als es mir dagegen möglich war, eine aus gutem Pferdefleisch hergestellte Bouillon zu verwenden, trat die frühere Widerstandsfähigkeit der Staphylokokken gegen Kresol wieder in Erscheinung. Das führte zu einigen systematischen Versuchen darüber, welches Ergebnis die Verimpfung mit kresolhaltigen Lösungen behandelter Staphylokokken an Battiststückchen in Bouillonproben von verschiedener Zusammensetzung hat — s. Tabelle I, Gruppe 3, 4 und 5. — Dabei erwies sich die Pferdefleischbouillon (bezeichnet als Fleischbouillon) ohne Traubenzuckerzusatz der entsprechenden gewöhnlichen, aus minderwertigem Fleisch hergestellten (in der Tabelle Bouillon) und der nur aus Liebigs Fleischextrakt und Pepton gekochten Bouillon (Liebig-Bouillon) in den meisten Versuchsreihen erheblich überlegen; es kamen in ihr noch Keime nach Einwirkungszeiten zum Wachstum, bei denen die anderen Nährlösungen Sterilität anzeigten. Zusatz von 3 % Traubenzucker steigerte die Eignung der gewöhnlichen und der Liebigbouillon zur Wachstumsbeförderung geschädigter Staphylokokken sehr stark — siehe die beiden letzten Gruppen der Tabelle I. — Dagegen ist die Pferdefleischbouillon an sich ein so gutes Nährmedium, daß durch Zusatz von 3 % Traubenzucker nur noch eine geringe Steigerung der Nährfähigkeit eintritt. Je nach der Güte der Bouillon trat Abtötung durch 0,5 %ige wässerige Kresollösung — siehe letzte Gruppe der Tabelle I — bei Bouillon ohne Zusatz in 30, 50 und 120 Minuten, in Traubenzuckerbouillon nach 75, 135 und 135 Minuten in Erscheinung. Die Pferdefleischbouillon mit 3 % Traubenzucker übertraf somit die Liebigbouillon mit dem gleichen Zusatz als Nährmedium nicht erheblich, wohl aber war der Unterschied ganz wesentlich, wenn der Nährlösung in beiden Fällen kein Traubenzucker beigefügt war.

Die Versuche zeigen, in welch hohem Maße der Ausfall der Desinfektionsversuche in der Tat von der Güte des Nährmediums abhängt und wie nötig es ist, optimale Nährmedien zur Ermittelung der Desinfektionsleistung zu verwenden; sie ergeben ferner, daß der Zusatz von 3 % Traubenzucker nach dem Vorschlag von Süpfle[1]) eine weniger geeignete, wenn auch nicht eine minderwertige Bouillon für die Züchtung geschädigter Staphylokokken so verbessern kann, daß sie einer guten Bouillon mit diesem Zusatz fast gleichwertig wird.

---

[1]) Süpfle, Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphologie und Physiologie. München, 1914/16, Arch. f. Hyg. 85, 189. 1916.

Tabelle

Einfluß der Zusammensetzung des Nährmediums auf das

(Angewandt

Kresol-konz. %	Kresol angewandt in Form von	Methode	Nährmedium		Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten: 10	20	30
0,5	Kresotin-Kresol	Batist	Bouillon				
			3% Traubenzucker-Bouillon				
0,5	wässerige Lösung (Staphylokokken N)	Batist	Bouillon				
			1% Taubenzucker-Bouillon				
			3% „ „				
0,5	wässerige Lösung (Staphylokokken Z)	„	Boulllon				
			1% Traubenzucker-Bouillon				
			3% „ „				
0,75	wässerige Lösung (Staphylokokken N)	„	Bouillon		—	—	—
			1% Traubenzucker-Bouillon		—	—	—
			3% „ „		+	—	—
0,45	wässerige Lösung (Staphylokokken N)	Suspension	Nährагar		+++	+++	+
			1% Traubenzucker-Agar		+++	++	++
			3% „ „		+++	+++	++
0,45	wässerige Lösung (Staphylokokken Z)	„	Nähr-Agar		+++	+++	+++
			1% Traubenzucker-Agar		+++	+++	+++
			3% „ „		+++	+++	+−+
1,0	wässerige Lösung (Staph. N u. Z)	Batist	Liebig-Bouillon		+	+	—
			Fleisch-Bouillon				+
1,5	desgl.	„	Liebig-Bouillon		+	+	—
			Fleisch-Bouillon		+	+	—
2,0	desgl.	„	Liebig-Bouillon		+	—	+
			Fleisch-Bouillon		+	+	+
0,75	desgl.	Suspension	Liebig Bouillon		+	+	+
			Liebig-Agar		+	+	++
			Fleisch-Bouillon		+	+	+
			Fleisch Agar		++	+	++
1,0	wässerige Lösung (Staph. W. u. Z.)	Batist	Bouillon		+	+	+
			3% Traubenzucker-Bouillon			+	+
			Liebig-Bouillon		+	+	+
			3% Traubenz.-Liebig Bouillon			+	+
			Fleisch-Bouillon		+	+	+
			3% Traubenz.-Fleisch-Bouill.			+	+
0,5	wässerige Lösung (Staph. Wo u. N)	Suspension	Bouillon ohne	Traubenzucker	—	+	—
			„ mit		+	+	+
			Liebig-Bouillon ohne		+	+	+
			„ „ mit		+	+	+
			Fleisch-Bouillon ohne		+	+	+
			„ „ mit		+	+	+
			Agar ohne	Traubenzucker	++	+	—
			„ mit		+++	+++	++
			Liebig-Agar ohne		++	+(6)	+(1)
			„ „ mit		+++	+++	++
			Fleisch-Agar ohne		+++	+++	+++
			„ „ mit		+++	+++	++

Anm.: + + +: bedeutet dichter Rasen, + +: zahlreiche Kolonien, +: auszählbare Kolonien bis etwa 25; die Ziffern in Klammern

I.

Ergebnis bei Desinfektionsversuchen mit Kresolen.

Staphylokokken.)

Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten

40	50	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240	255	270
				+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
				+	+	+	+	—	+	—	—	+	—	—		
				+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—		
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+		
				+	+	—	+	+	+	—	—	—	—	—		
				+	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—		
				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
—	—	—	—													
—	—	—	—													
+	—	—	—													
—	—	—	—	—	—	—										
+	—	—	—	—	—	—										
+++	++	—	+ (4)	—	—	—										
+++	+++	+++	++	+ (3)	—	—										
++	++	++	++	++	+	+										
+++	+++	+++	+++	++	+	+										
—	+	—	—	—	—											
—	—	—	+	—	—	+										
—	—	—	—													
—	+	+	—	+												
—																
—	—	+														
+	+	+	—	—												
+	+	+														
+	+	+	+	+												
+	+	++	++	+												
—	—	—														
+	—	—														
—	—	—														
+	+	+	—													
+	—	—	—													
+	+	—	—													
—	—	—	—	—	—	—										
+	+	+	—	—	—	—										
+	—	—	—	—	—	—										
+	+	+	+	+	—	+	—	—								
+	+	+	—	+	+	—										
+	+	+	+	+	+	+	—	—								
—	+ (1)	—	—	+ (1)	—	—										
+ (9)	+ (7)	+ (7)	—	—	+ (5)	+ (9)										
—	—	+ (2)	—	—	—	—										
++	+ (2)	+ (1)	+ (1)	+ (1)	—	—										
+++	++	+ (14)	+ (9)	+ (4)	+ (2)	—										
+++	++	+ (6)	+ (7)	+ (3)	+ (1)	—										

geben die Zahl der Kolonien an, wenn weniger als 10 gewachsen sind; „k" besagt, daß nur im Preßwasser Wachstum eingetreten ist.

In allen folgenden Versuchen wurde daher Pferdefleischbouillon mit Traubenzuckerzusatz und nur damit hergestellter Agarnährboden als Nährmedien für die Nachkultur angewandt. Für die Vorkultur, d. h. für die Züchtung der Staphylokokken als Testmaterial für die Desinfektionsversuche eignet sich aber ein Traubenzucker enthaltender Nährboden trotz des sehr üppigen Wachstums darauf nicht, da die von den Staphylokokken aus Traubenzucker gebildeten Säuren bei der Brutschranktemperatur die Keime so stark schädigen, daß sie sich im Desinfektionsversuche nicht als resistent erweisen.

Vergleichende Versuche mit der Suspensions- und Keimträgermethode.

Zu der Batiststückchenmethode, die seit Jahren in meinen Desinfektionsversuchen mit den verschiedensten Keimarten angewandt worden ist, haben mich folgende Überlegungen geführt:

Die Batiststückchen mit ihren zahlreichen Fäden und der unendlich großen Menge der sie zusammensetzenden Fäserchen stellen eine große Oberfläche dar, an der sich sehr viele Keime aus einer Aufschwemmung festsetzen können. Die Anwendung einer recht großen Zahl von Bakterien für die Desinfektionsversuche scheint mir aber ganz besonders wichtig zu sein, nachdem die Versuche mit der Granatenmethode von Paul und Krönig gezeigt haben, daß nur ein verhältnismäßig kleiner Teil der Keime einer Kultur wirklich resistent gegen Desinfektionsmittel ist, der weitaus größte Teil aber der Schädigung sehr rasch erliegt.

So wurde bei Versuchen mit $^1/_{60}$ molarer schwefliger und Schwefelsäure von dem ursprünglichen Keimgehalt an je 5 Granaten von etwa 120000 noch lebend gefunden

bei schwefliger Säure nach 3 Min. 29, nach 5 Min. 26, nach 10 Min. 7, nach 20 Min. 6 Keime
„ Schwefelsäure „ 3 „ 197, „ 5 „ 144, „ 10 „ 31, „ 20 „ 7 „

(Hailer)[1]. Nur einer auf 4000 Staphylokokken war also nach 3 Minuten währender Einwirkung der schwefligen Säure noch am Leben, das sind 0,025 %, und die Keimzahl verminderte sich während der folgenden 17 Minuten, also dem fast 6fachen der Abtötungszeit für die Hauptmenge, nur noch ganz langsam, nämlich auf etwa $^1/_5$ der nach 3 Minuten noch vorhandenen.

Ein derartiger, zunächst sehr rascher, dann aber ganz allmählicher Abfall der Keimzahl findet sich bei den meisten Desinfektionsversuchen mit chemischen Mitteln nach dieser sehr exakten Methode. Fast immer steht einer großen Zahl sehr empfindlicher eine kleine Zahl hochresistenter Keime gegenüber. Man könnte daraus schließen, daß die schweflige Säure und die meisten anderen Desinfektionsmittel in verhältnismäßig kurzer Zeit die Infektionsgefahr außerordentlich stark vermindern und daß mit den wenigen überlebenden Keimen nicht mehr ernstlich zu rechnen sei. Ich halte einen solchen Schluß nicht für berechtigt.

Allerdings ist der weitaus größte Teil der Keime in einer Kultur in einem Zustand geringer Widerstandsfähigkeit gegen Schädigungen. Dies erweist die starke Abnahme der Keimzahl beim Altern der Kultur selbst, beim Wechsel des Mediums, z. B. Aufschwemmung in Kochsalzlösung, beim Antrocknen usw., vor allem aber die Tatsache, daß es bei den Bakterien im allgemeinen nicht gelingt, mit einem oder nur wenigen Keimen eine experimentelle Infektion bei Versuchstieren zu erzielen,

[1]) Hailer, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 36, 332, 1911.

daß dazu vielmehr bei den meisten Bakterienarten tausende von Bakterien nötig sind. Es ist aber nicht die große Zahl, die zur Infektion führt, vielmehr finden sich erst unter sehr vielen Keimen mit Sicherheit einige wenige, die die Abwehrkräfte des Organismus überwinden, im Körper zur Ansiedelung kommen und ihre krankheiterregende Wirkung entfalten. Nichts aber spricht dagegen, daß diese wenigen wirklich virulenten Keime identisch sein können mit den gegen Desinfektionsmittel resistenten.

Daraus ergibt sich für die Methodik der Desinfektionswertprüfung und die Beurteilung der Desinfektionsmittel, daß, weil die Desinfektionsmaßnahmen sich richten müssen gegen die resistenten Keime, bei den Desinfektionsversuchen große Keimmengen angewandt werden müssen, um mit Sicherheit einige widerstandsfähige bei jeder Entnahme zu erhalten; ferner, daß Konzentration und Einwirkungszeit festgesetzt werden müssen, nach den Versuchsergebnissen mit den resistentesten Keimen einer Kultur und nicht nach der Wirkung auf die allerdings überwiegende Mehrzahl der Minderresistenten.

Es wird in den hier mitzuteilenden Versuchen zu prüfen sein, welche Methode besser diesen Anforderungen entspricht, die Batist- oder die Suspensionsmethode.

Der zweite Grund, der mich zu der Verwendung von Batiststückchen führte, ist die leichte Entfernbarkeit der anhaftenden Desinfektionsmittelreste bei ihrem Gebrauche. Es wird durch vergleichende Versuche zwischen der Suspensions- und Batistmethode zu prüfen sein, ob und wodurch eine weitere Schädigung der Entwicklung der Keime durch das Desinfektionsmittel am besten vermieden werden kann, bevor oder wenn die Keime in das neue Nährmedium verimpft werden und ob dies bei Kresolen ebenfalls möglich ist.

Bei der Batistmethode kann das den Stückchen anhaftende Desinfektionsmittel in den meisten Fällen durch chemische Umsetzung mit indifferenten Stoffen oder geringen Konzentrationen an sich nicht indifferenter Mittel unschädlich gemacht, oder durch Waschen mit Wasser wenigstens so weit verdünnt werden, daß eine entwicklungshemmende Wirkung im neuen Nährmedium ausgeschlossen oder mindestens sehr stark herabgesetzt ist. Das ist aber bei der Suspensionsmethode nur in wenigen Fällen und nur mit Schwierigkeiten möglich und die Verdünnung im Nährmedium selbst reicht häufig nicht aus, um die entwicklungshemmende Wirkung des eingebrachten Desinficiens gegenüber den geschwächten Keimen aufzuheben.

Oft sind es auch für die Desinfektionswirkung indifferente Stoffe, die das Wachstum der Keime im Nährmedium unterdrücken, so die in Kresolpräparaten nicht selten als Verunreinigungen enthaltenen Kohlenwasserstoffe. Auf die wachstumshemmende aber nicht keimtötende Kraft solcher Stoffe ist ja auch die, in der 1. Mitteilung schon berührte, Empfehlung des Cyllins zur Desinfektion milzbrandinfizierter Borsten und Roßhaare durch Page zurückzuführen; für diese Anwendung ist dieses unreine Teerölpräparat ganz unbrauchbar und nur auf Grund von Versuchen mit der für diese Prüfung völlig ungeeigneten Suspensionsmethode empfohlen worden, während es bei fehlerfreier Prüfung sich wirkungslos erwies (Lange)[1].

Die Annahme aber, daß Keime, die im Nährmedium nicht zur Entwicklung kommen, auch für den Organismus unschädlich seien, ist nicht angängig.

Ganz abgesehen davon, daß die hemmende Wirkung des Desinficiens durch Verdunsten, Wegwaschen von den Keimen usw. schon vor der Infektion aufgehoben sein kann, treffen die mit Resten des Desinficiens behafteten Keime im Organismus auf ein Medium, das durch

[1]) Lange, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 45, 92, 1913.

Verdünnung, Wegführung und chemische Bindung des Desinfektionsmittels sowie durch optimale Nährfähigkeit ganz andere Verhältnisse für die Entwicklung bietet, als die Schrägagarschicht oder ein Röhrchen mit 12 ccm Bouillon.

Ein weiterer Teil dieser Arbeit soll sich daher mit der Frage befassen, ob und inwieweit es nötig und möglich ist, das Desinficiens bei Versuchen mit Kresolpräparaten zu entfernen oder unschädlich zu machen.

Abgesehen von der Möglichkeit, große Keimmengen zu verwenden und das Desinficiens vor der Verimpfung in Bouillon unschädlich zu machen, haben die Batiststückchen aber noch weitere Vorzüge: sie lassen sich bei den Versuchen leicht von einem Gefäß in das andere übertragen, abspülen und verimpfen; anhaftende Luftblasen sind leicht auch an der Unterseite zu erkennen und zu beseitigen; sie sind brauchbar für die Verwendung feuchter und angetrockneter Keime; schließlich bestehen sie aus einem Material, das weder durch chemische Verbindungen wie Säuren und Laugen in den für die Anwendung zur Desinfektion in Betracht kommenden Konzentrationen verändert wird, noch die meisten Stoffe in nennenswerter Weise bindet. Sie wurden in einigen hier angeschlossenen Versuchen auf ihre Verwendbarkeit nicht allein im Vergleich mit Suspensionen, sondern auch mit anderen als Keimträger dienenden Stoffen, wie Granaten, Papier, Drell, Seidenfäden und Wolle geprüft.

Zunächst war aber auch bei diesen vergleichenden Versuchen über die Suspensions- und Batistmethode noch die Frage des besten Nährmediums bei beiden Behandlungsarten zu prüfen.

Es besteht in der Literatur keine Einhelligkeit darüber, ob sich für die Nachkultur der Staphylokokken nach Desinfektionsversuchen besser Bouillon oder Agar eignet. Die Frage war sowohl für Suspensionen als für Batiststückchen zu prüfen, da es sich bei Versuchen mit Milzbrandsporen erwiesen hat, daß die Milzbrandkeime nach dem Übertragen des infizierten und behandelten Batists auf eine Agarschicht und dem Hin- und Herbewegen dort mindestens schneller zur Entwicklung kommen als in Bouillon. Einige in der Tabelle III — 1. und 4. Gruppe — aufgeführte Versuche zeigen aber, daß Staphylokokken von Batist aus sich auf Agar viel schlechter entwickeln als in Bouillon, so daß eine Abtötung der Keime beim Verimpfen auf Agar vorgetäuscht wird, während in Bouillon noch bei späteren Entnahmen Wachstum eintritt.

Für Batiststückchen eignen sich also nur flüssige Nährmedien.

Bei Suspensionen war das Ergebnis — s. Tabelle I, 3. und 5. Gruppe, Tabelle II und Tabelle III 1. Gruppe — der Prüfung, ob Verimpfung einer Öse in Bouillon oder auf Agar schärfere Resultate gibt, nicht ganz einheitlich.

In einzelnen Versuchsreihen kamen auf Agar noch nach etwas längerer Zeit Keime zur Entwicklung als in Bouillon, in anderen und zwar der größeren Zahl erwies sich die Bouillon als Nährmedium dem Agar zum Teil erheblich überlegen; das trat ganz besonders dann ein, wenn höhere Kresolkonzentrationen auf die Staphylokokken eingewirkt hatten, nämlich 0,8 und 1,0%ige Lösungen.

Die Verimpfung in Bouillon dürfte daher der größeren Schärfe der Ergebnisse wegen dem Agar vorzuziehen sein, wenn man nicht gleichzeitig sowohl die Verimpfung in Bouillon als in Agar anwenden will oder kann. Denn der Schrägagar hat den nicht zu unterschätzenden Vorteil, einen Maßstab für die Zahl der noch überlebenden Keime in der Zahl der entwickelten Kolonien und dadurch einen Anhalt für die Stärke der Wirkung zu geben, während in Bouillon ein überlebender Keim dasselbe, höchstens der Zeit nach etwas verspätete Wachstum hervorruft, wie tausende noch lebensfähige.

Tabelle II. Einfluß der Verimpfung der bei Suspensionsversuchen behandelten Keime in Bouillon und auf Agar auf das Ergebnis.

(Testobjekte: Staphylokokken.)

Kresol-Konz. %	Art der Lösung	Nährmedium	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten 10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	135	150	165	180
1,0	Kresol in Wasser	Bouillon	—	—	—	—	—	—								
		Agar	+	—	—	—	—	—								
0,5	Kresol in Wasser	Bouillon	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—		
		Agar	+	+	+	+	+	+	+	—	k	—	—	—		
0,5	Kresol in Lösung von naphthalinsulfosaurem Natrium	Bouillon	+	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—	—		
		Agar	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
0,5	Kresol in Kresolseife DAB. 5	Bouillon	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—		
		Agar	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—		
0,5	Kresol in Wasser	Bouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
		Agar	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5	Kresol in Lösung von naphthalinsulfosaurem Natrium	Bouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
		Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
0,5	Kresol in Kresolseife DAB. 5	Bouillon	+	+	—	—	—	+	—	—	+	—				
		Agar	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—				
0,45	Kresol in Wasser	Bouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
		Agar	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—				
		1 % Traubenzucker-Bouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
		1 % Traubenzucker Agar	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	—	—				
		3 % Traubenzucker bouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
		3 % Traubenzucker-agar	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++				
0,6	Kresol in Wasser	Liebig-Bouillon	+	—	—	—	—	—								
		„ -Agar	+ (6)		—	—	—	—								
0,6	Kresol in Kresolseife DAB. 5	Liebig-Bouillon	+	+	+	—	+	+								
		„ -Agar	+ (2)	—	—		+ (1)	+ (1)								
		Pferde-Bouillon										+	—	+	—	
		„ -Agar										+ (8)	+ (1)	—	—	
0,8	Kresol in Wasser	Liebig-Bouillon	+	+	+	+										
		„ -Agar	+	—	—											
		Pferde-Bouillon						—	+	—	—	+	—			
		„ -Agar						—	+	—	—	—	—			
0,8	Kresol in Kresolseife DAB. 5	Liebig-Bouillon	—	—	—	—										
		„ -Agar	—	—	—	+ (1)										
		Pferde-Bouillon						—	—	+	—	+	—			
		„ -Agar						—	+ (1)	—	—	—	—			
1,0	Kresol in Wasser	Liebig-Bouillon	—	+	+											
		„ -Agar	+ (2)	+ (2)	—											
		Pferde-Bouillon	+	—	—	+	—	+	+	+	—	+				
		„ -Agar	—	+ (1)	—	—	—	—	—	—	—	—				
1,0	Kresol in Kresolseife DAB. 5	Liebig-Bouillon	—	+	+											
		„ -Agar	—	+ (2)	—											
		Pferde-Bouillon	+	—	+	—	—	+	—	+	—	+				
		„ -Agar	—	+ (2)	—	—	+ (2)	—	—	+ (2)	+ (1)	—				

Anm.: + + +: bedeutet dichter Rasen, + +: zahlreiche Kolonien, +: auszählbare Kolonien bis etwa 25; die Ziffern in Klammern geben die Zahl der Kolonien an, wenn weniger als 10 gewachsen sind; „k" besagt, daß nur im Preßwasser Wachstum eingetreten ist.

Tabelle

Vergleich der Wirkung verschiedener Kresole enthaltender Lösungen

Kresol-Konz. °/₀	Art der Lösung	Keimart und Stamm	Keimträger	Nährmedium	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten 10	20	30
0,5	Kresol in Wasser	Staphyl. pyog. aur.	Batist	Bouillon			
				Agar	+	−	+
			Suspension	Bouillon	+	+	+
				Agar	+	+	+
0,2	Kresol in Kresotin-Kresol	Typhus	Batist	Bouillon			+
			Suspension	Agar			+
0,3	desgl.	„	Batist	Bouillon	+	+	+
			Suspension	Agar	+	+	+
0,45	Kresol in Wasser	Staphyl. pyog. aur.	Batist	Bouillon	+	+	+
			Suspension	Agar	+ (I)	−	−
0,35	desgl.		„	„	+++	+++	+++
0,5	Kresol in Wasser	Staphyl. pyog. aur. Stamm N	Batist	Bouillon			
				Agar			
0,4	desgl.		Suspension	„	+++	+++	++
0,5	„	Stamm P	Batist	Bouillon			
				Agar			
0,4	„		Suspension	„	+++	+++	++
0,5	„	Stamm Q	Batist	Bouillon			
				Agar			
0,4	„		Suspension	„	+++	+++	+++
0,5	„	Stamm X	Batist	Bouillon			
			Suspension	Agar	+++	+++	+++
0,5	„	Stamm Z	Batist	Bouillon			
				Agar			
			Suspension	„	+++	+++	+++
0,75	Kresol in Wasser	Staphylokokken Mischung der Stämme Wo, N und Z	Batist	Bouillon			+
			Suspension	Agar			+
0,75	Kresol in kresotinsaurem Natrium		Batist	Bouillon			−
			Suspension	Agar			
1,0	Kresol in Wasser		Batist	Bouillon	−	−	−
			Suspension	Agar	+	+	+
	Creolin 8 °/₀		Batist	Bouillon	+	+	+
			Suspension	Agar			−
	Creolin 10 °/₀		Batist	Bouillon	+	+	+
			Suspension	Agar			−
	Cremulsion 10 °/₀		Batist	Bouillon	+	+	+
			Suspension	Agar			−
0,4	Kresol in Wasser	Staphyl. Wo und N gemischt	Granaten	Bouillon			
			Batist	„			
			Suspension	Agar			

Zeichenerklärung siehe Tabelle II.

III.
bei Verwendung derselben Testobjekte an Batist und in Suspension.

Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten

40	50	60	75	90	105	120	135	150	165	180	195	210	225	240	255	270
						+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−
+	−	−	+	−	−	−	−	−								
+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−						
+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−						
+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−						
+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−						
−	−	−	−	−												
+	−	−	−	−												
+	+	+	+	+	+	−										
−	−	−	−	−	−	−										
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++										
				+	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−		
				−	−	−	−	−								
++	++	+	−	−	−	−										
				+	+	−	+	−	−	−	−	−				
				+	−	−	−	−								
++	++	+	+	+	+ (4)	−										
				+	−	−	−	−	−	−	−	−				
				+	−	−	−	−	−	−	−	−				
+++	++	++	+ (8)	−	+ (2)	−										
				−	−	−	−	−	−	−						
+++	++	++	++	++	−	−										
				+	+	−	+	+	+	−	−	−				
				−	−	−	−	−								
+++	+++	++	++	+ (5)	+ (8)	+ (6)										
−	+	−	−	−	+	−										
−	−	−	+	−	−	−	+	−								
+	−	+	+	−	−	−										
		−	−	−	−	+	+	−								
−	−	−														
−	−	−														
−	+	−	+	−	−	−	−	−								
−	−	−	−	−	−	−										
+	−	−	−	−	−	+	−	−								
+	−	+	+	−	−	−	−	−								
+	+	+	−	−	−	−	−	−								
−	−	−	+	−	−	−	−	−								
				−	−	−	−	−	−							
														+	+	+
				+++	+++	+++	+++	+++	+++							

Auch bei Suspensionen erwies es sich — siehe Tabelle I, 2. und 5. Gruppe, Tabelle II, 3. Gruppe —, wie in den entsprechenden Versuchen mit Batiststückchen — siehe oben —, daß sich Wachstum nach um so längerer Einwirkungszeit und zwar auch ein um so kräftigeres feststellen ließ, je besser das Nährmedium war.

So trat in der Kriegsbouillon keine Entwicklung mehr auf nach 30 Minuten Einwirkung von 0,5%igen Lösungen, in Liebigbouillon nach 50 Minuten und in der Pferdebouillon nach 120 Minuten und ähnlich verhielt sich auch das Wachstum der Keime auf Agar. Traubenzuckerzusatz steigerte die Ergiebigkeit des Nährbodens auch hier um so mehr, je geringwertiger er an sich war, d. h. bei Kriegsbouillon erscheint die Abtötungszeit durch Zusatz von 3% Traubenzucker von 30 auf 75 Minuten erhöht, bei Liebigbouillon von 50 auf 120 Minuten, bei Pferdefleischbouillon aber nur von 120 auf 135 Minuten. Dieser gute Pferdebouillonagar wurde daher mit Traubenzuckerzusatz in den vergleichenden Versuchen angewandt.

Die Anwendung optimaler Nährböden erscheint ja bei der Suspensionsmethode um so dringlicher, weil das Wachstum unter dem Einfluß entwicklungshemmender Stoffe um so eher ausbleibt, je schlechter das Substrat ist.

Der Einfluß der Keimmenge auf das Ergebnis. Wie erwähnt, war von einzelnen Autoren Abtötung von Staphylokokken in Suspension durch niedere Kresolkonzentrationen schon in Zeiten festgestellt worden, die sich bei meinen Batiststückchenversuchen als wirkungslos gezeigt hatten. Es war daher zu prüfen, wie sich verschiedene Kresolkonzentrationen gegenüber denselben Staphylokokkenabschwemmungen verhalten, je nachdem sie an Batist oder in Suspension ihrer Einwirkung ausgesetzt wurden.

Die Staphylokokken wurden in allen Fällen auf gutem Pferdefleischbouillonagar ohne Traubenzuckerzusatz in Kolle-Schalen gezüchtet. Die Stämme waren in den letzten Monaten aus Eiter gezüchtet worden, wurden ständig auf ihre Resistenz hin geprüft und teils einzeln, teils im Gemisch von 2 und 3 Stämmen verwendet. Der Nährboden wurde zunächst mit 20 ccm sterilen Leitungswassers unter Verwendung von Glasspateln abgeschwemmt und die Abschwemmung durch eine dichte, 1 cm starke Schicht von Glaswolle filtriert; hierauf wurde der Nährboden nochmals mit 10 ccm abgespült und auch diese Suspension durch die Glaswolle zur Entfernung von dichten Partikelchen und Nährbodenstückchen geschickt. Mit den Abschwemmungen wurden die Battiststückchen durch ½ stündiges Einlegen gut imprägniert; die Suspension wurde, wenn sie sichtlich zu dicht war, noch etwas verdünnt, sonst unverdünnt angewandt, indem 2 ccm in Röhrchen pipettiert, mit dem gleichen Volumen Desinfektionsmittellösung von entsprechender, also doppelt so hoher Konzentration, als zur Wirkung kommen sollte, durch rasches Zuströmenlassen und gutes Umschütteln gemischt und in ein zweites Röhrchen umgegossen, um die Berührung der Öse beim Abimpfen mit Spritzern der Suspension an der Glaswand, die nicht in dem Desinfektionsmittel aufgeschwemmt waren, unmöglich zu machen.

Bei Einwirkung gleicher Konzentrationen von Kresollösung auf die gleichen Keime an Batiststückchen und in Suspension war das Ergebnis in beiden Reihen ganz verschieden — siehe Tabelle III. —

In einigen Fällen erfolgte Abtötung an Battist erheblich später als in Suspension, in anderen Versuchen sind die Unterschiede weniger groß und in einzelnen Reihen — siehe 2. und 5. Gruppe der Tabelle III — zeigten sich die Keime in Suspension viel resistenter als an Batist.

Die Frage, ob die Keime in Suspension weniger widerstandsfähig sind, als an Battist, die die Ergebnisse einiger Autoren mit Kresotin-Kresol und anderen Ersatzpräparaten nahelegten, war also nicht beantwortet, da die Ergebnisse so ganz verschieden ausfielen.

Die Erklärung für diesen Widerspruch gaben alsbald die in Tabelle IV zusammengestellten Versuche. Die Ergebnisse der Suspensionsmethode sind nämlich

in ganz außerordentlich hohem Maße abhängig von der Dichte der angewandten Suspension; je dichter die Aufschwemmung war, um so später trat die Abtötung ein, z. B. bei einer auf $^1/_{32}$ verdünnten Suspension in 20 Minuten, bei $^1/_{10}$-Verdünnung in 30 Minuten, bei $^1/_8$ in 75, bei $^1/_4$ in 135, bei Verdünnung auf die Hälfte der ursprünglichen Dichte in 150 Minuten und bei der unverdünnten Aufschwemmung nicht in 300 Minuten.

Dieses Ergebnis hat zwei Gründe: zunächst ist die Wahrscheinlichkeit, daß resistente Keime gefaßt werden, um so größer, je mehr Keime zur Verimpfung kommen, je dichter also die Suspension ist. Wenn man immer wieder, z. B. in den letzten Gruppen der Tabellen I und II und in der vorletzten der Tabelle III Reihen trifft, in denen bei späten Entnahmen nur ein oder vereinzelte Keime zur Entwicklung kamen, während mehrfach ergebnislose Entnahmen vorangegangen waren, so sind das nicht Zufallsbefunde oder gar Versuchsfehler, sondern es sind eben die wirklich resistenten Keime, die hier ausnahmsweise erfaßt wurden, während bei den vorangegangenen Entnahmen bei der überhaupt geringen Zahl verimpfter Bakterien nur empfindliche und daher abgetötete Bakterien in die Öse gelangt waren. Diese „Ausnahmebefunde“ sind also gerade diejenigen, auf die besonders zu achten wäre.

Dann aber spielt als Ursache der Abhängigkeit des Versuchsausfalls von der Dichte der Aufschwemmung die Bindung des Kresols durch die Bakterienzelle eine Rolle.

Von Phenol ist durch die Arbeiten von Reichel, ferner von Küster und seinen Mitarbeitern nachgewiesen worden, daß es durch Bakterien aus der Lösung aufgenommen wird, durch Lösung im Eiweiß oder in den Lipoiden, wie Reichel annimmt, oder durch Adsorption, was Küster wahrscheinlicher erscheint. Bei Kresolen, die ja dem Phenol sehr nahe stehen, dürfte das gleiche eintreten.

Je dichter die Suspension daher ist, um so mehr Keime müssen sich in die gleiche Menge Kresol teilen, um so weniger davon entfällt auf das einzelne Bakterium, so daß mehr und mehr bei vielen Keimen nicht die tödliche Konzentration erreicht wird.

So kommt es, daß 1% Kresol enthaltende Kresolseifenverdünnungen, die Staphylokokken an Batiststückchen in dem entsprechenden Parallelversuch in 40 Minuten abtöteten, im Suspensionsversuch noch nach 120 Minuten zahlreiche Kolonien sich entwickeln ließen, und daß 0,75%ige Kresollösung gleichfalls auf dichte Suspensionen sehr unzureichend wirkte (s. Tab. III).

Nur bei Anlegung einer ziemlich dünnen Suspension bei der Versuchsvorbereitung wird eben mit Sicherheit die nachteilige Wirkung einer zu starken Verteilung des Kresols auf die Zellen vermieden, und man schwankt bei den Suspensionsversuchen zwischen der Gefahr einer Verwendung zu dünner Suspensionen mit ihren nicht wünschenswerten Folgen für den Versuchsausfall und der anderen Gefahr der Anwendung zu dichter Aufschwemmungen, bei denen die auf die einzelne Zelle entfallende Menge Desinficiens zur Abtötung nicht immer ausreicht. Zur Vermeidung der beiden Gefahren läßt sich gar keine Regel geben, denn der Ertrag der gleichen Kolleschale ist trotz Anwendung des gleichen Nährbodens und derselben Kulturen je nach der Menge der Aussaat, dem Feuchtigkeitsbelag der Agarschicht und anderen nicht konstant zu haltenden Faktoren ganz verschieden und dies gilt noch in

Tabelle IV. Einfluß der Dichte der Keimsuspension auf das Ergebnis des Abtötungsversuchs bei Kresol enthaltenden Lösungen.

Art und Gehalt der Lösung Keimart	Suspension der Keime verdünnt auf	Ergebnis des Kulturversuchs auf Agar nach einer Einwirkungszeit von Minuten												
		10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	135	150	180
0,75 % Kresol in Wasser Staphylokokken	1/10	−	−	+	−	−	−							
	1/5	−	−	−	−	−	−							
	1/4	−	−	−	−	+	−							
	1/3	−	+	−	−	+	+							
	1/2	+	−	+	−	−	−							
	2/3	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−	+	+	
	4/5						+	++	+	+	+	+	+	
0,75 % Kresol in Wasser Staphylokokken	1/10	+	+	−	−									
	1/5	++	+	−	−									
	1/4	++	+	−	−	−	−							
	1/3	++	++	+	−	++	+							
	1/2	+++	+++	+++	+	+	+							
	2/3				+	+	+	+	−	−	−			
	unverd.								+++	++	+++	++	+	+
0,75 % Kresol in Seifenlösung (Sapo Kalinus) Staphylokokken	1/10	−	−	−	−									
	1/5	−	−	−	−									
	1/4	−	−	−	−	−	−							
	1/3	+	−	+	+	+	+							
	2/3	+	−	+	−	+	−	−	−	−	+			
	3/4	++	++	++	++	++	+	−	−	+	−			
	unverd.			++	++	+	++	++	+	++	++	+	+	
0,75 % Kresol in naphthalinsulfosaurem Natrium (1 : 1) Staphylokokken	1/10	+	−	−	−									
	1/5	+	−	−	−	−	−							
	1/4	−	−	−	−	−	−							
	1/3	+	−	−	−	−	−							
	1/2	+++	++	−	++	+	−							
	2/3			−	−	−	−	−	−	−	−			
	3/4			+	−	+	+	−	−	−	−			
	unverd.								++	+	−	−	+	−
1,0 % Kresol in Wasser Staphylokokken	1/4	−	−	−	−									
	1/2	−	−	−	−									
	1	+	+	+	−	−	−							
1,0 % Kresol in Seifenlösung	1/4	+	−	−	−	−	−							
	1/2	−	−	+	+	−	−							
	1	++	++	+++	+++	++	++	++	+	+	++			
0,5 % Kresol in Lösung von ortho kresotinsaurem Natrium (5 Kresol : 2 Salz)	1/32	++	−	−	−	−	−							
	1/10	++	++	−	−	−	−							
	1/5			++	++	++	+	−	−					
	1/4						++	++	++	+	+	−		
	1/2								+++	++	−	+	−	−
	unverd.[1]													
Staphylokokken 0,75 % Kresol in der gleichen Lösung	1/32	+	−	−										
	1/16	−	−	−	−	−								
	1/8	−	+	−	−	−								
	1/4			+	+	−	−	−	+					
	1/2			+	−	−	+	−	−					
	unverd.						++	+	+	−	+	+	+	

[1]) Noch nach 300 Minuten starkes Wachstum (+ +).

Zeichenerklärung siehe Tabelle II. Die festgestellten Keimzahlen sind hier nicht eingesetzt, so daß + 1—25 Keime bedeutet.

höherem Maß für die Anwendung verschiedener Bakterienarten, denn in diesen Versuchen wuchs z. B. ein Paratyphusstamm so üppig, daß er eine zu dichte Suspension gab, während eine gleichzeitig angelegte Staphylokokkenkultur bei Abschwemmung mit derselben Menge Wasser eine brauchbare Aufschwemmung lieferte.

Diese Gefahr zu starker Bindung des Desinficiens tritt bei Batistversuchen überhaupt nicht ein, denn es lassen sich die Batiststückchen natürlich mit so großen Mengen desinfizierender Lösung übergießen, daß die Bindung gar keine Rolle spielt, die Konzentration der Lösung gleich hoch bleibt und jeder Keim die volle, nach der Konzentration der Lösung auf ihn entfallende Menge Desinficiens erhält; dies entspricht auch durchaus den Verhältnissen bei der praktischen Desinfektion, wo die Menge der Keime im Verhältnis zum Desinfektionsmittel wohl nie so groß ist, daß die Bindung durch die Keime (natürlich nicht die durch anwesende andere Stoffe wie Eiweiß) konzentrationsvermindernd wirken könnte. Anderseits ist ja die Keimzahl an jedem einzelnen Stückchen so groß, daß die Forderung der Verwendung vieler Bakterien, um darunter sicher resistente zu verimpfen, bei Imprägnierung mit dichten Suspensionen sicher erfüllt wird.

Die Batistmethode entspricht daher sowohl der Forderung, resistente Keime infolge Verimpfung reichlicher Keimmengen bei jeder Entnahme zur Anwendung zu bringen, als auch derjenigen, den Gehalt der Lösung an Desinfektionsmittel durch starke Bindung an die Zellen nicht zu beeinträchtigen; beides ist bei der Suspensionsmethode nicht der Fall.

Einfluß des mitverimpften Desinfektionsmittels auf das Ergebnis. Die in der Desinfektionsmittellösung behandelten keimbeladenen Batiststückchen werden, wie in der I. Mitteilung beschrieben ist, durch langsames Betropfen mit 1 ccm schwach alkalischen Wassers von dem anhaftenden Desinficiens befreit und in Bouillon verimpft. Bei den Suspensionen ist natürlich eine Entfernung des Desinfektionsmittels aus dem Ösengehalt vor der Verimpfung nicht möglich, da sich Phenole nicht wie Säuren neutralisieren, wie Sublimat mit Ammonsulfid ausfällen oder wie Formaldehyd in indifferente Verbindungen überführen lassen. Desinficiens wird also in das Nährmedium mitverimpft, und da geschwächte und mit einem keimtötenden Mittel schon behaftete Zellen gegen geringe Konzentrationen schädigender Stoffe empfindlicher sind als unbehandelte, so kann eine Entwicklungshemmung eintreten und durch sie eine Abtötung vorgetäuscht werden. Ob diese Gefahr bei kresolhaltigen Lösungen besteht, sollten die Versuche der Tabellen V und VI ermitteln, die wie die übrigen Tabellen nur den kleineren Teil der zahlreichen mit gleichem Endergebnis vorgenommenen Versuche wiedergeben.

Werden mit Staphylokokken imprägnierte Batiststückchen nach Einwirkung von Lösungen mit 1 und 2% Kresol ohne und mit Abspülen in Bouillon verimpft — siehe Tabelle V unterer Teil —, so tritt Wachstum bei den kresolfreien (abgespülten) Proben noch nach längerer Einwirkungszeit und regelmäßiger ein, als bei den nicht abgespülten; noch etwas günstiger wirkte das Einlegen der Batiststückchen in eine schwache Natriumhydroxydlösung vor dem Verimpfen (Versuch mit 2%iger Lösung). Noch deutlicher tritt der begünstigende Einfluß der Entfernung des anhaftenden Desinfektionsmittels bei einem Versuch mit Granaten hervor: ohne Abspülen scheinbare Abtötung nach Einwirkung 0,5%iger Kresollösung während 20 Minuten, mit Abspülen Ausbleiben des Wachstums erst nach 60 Minuten.

Tabelle V.

Einfluß der Entfernung des Desinfektionsmittels von den Keimen vor der Verimpfung in Bouillon.

(Testobjekte: Staphylokokken an Granaten und Batiststückchen.)

Kresol-konz. %	Art der Lösung	Behandlung	Verimpft in	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten: 10	20	30	40	50	60	75	90	105	120
0,5	Kresol in Wasser	Granaten ohne Abspülen	Gewöhnl. Bouillon	+	—	—	—	—	—	—	—		
		Granaten mit Abspülen	desgl.	+	+	+	+	+	—	—	—		
0,4	Kresol in Form von Betalysol	Granaten ohne Abspülen	Gewöhnl. Bouillon	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+
		Granaten mit Abspülen	desgl.	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
1,0	Kresol in Wasser	Batiststückchen ohne Abspülen	Gewöhnl. Bouillon	+	+	—	—	—	—	—	—		
		Batiststückchen mit Abspülen	desgl.	+	+	+	—	+	—	—	—		
2,0	Kresol in Form von Kresolseifenlösung DAB. 5	Batiststückchen abspülen	Gewöhnl. Bouillon			+	+	—	+	+	—	+	+
		nicht abspülen	desgl.			+	—	+	+	+	—	—	+
		einlegen in 0,05%ige Natronlauge	desgl.			+	+	+	—	+	+	+	+

Tabelle VI.

Einfluß der Entfernung des Desinfektionsmittels vor Verimpfung in das Nährmedium bei Anwendung reiner und unreiner Kresolpräparate und der Batiststückchen- und Suspensionsmethode.

(Testobjekte: Staphylokokken.)

Kresol-konz. %	Art des Kresols	Methode	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten: 10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
0,45	Reines Kresol in Wasser	Batiststückchen	+	+	+	+	—	+	—	+	+	—	+	—
0,45	5% Teeröl enthaltendes Kresol	desgl.	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	+	—
0,45	5% Xylenol enthaltendes Kresol	desgl.	+	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+
0,45	Reines Kresol in 0,4%ige Seifenlösung	desgl.	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	—	—
0,35	Kresol in Seifenlösung	Suspension	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+[1]
0,35	5% Teeröl enthaltendes Kresol	desgl.	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—[2]
0,35	5% Xylenol enthaltendes Kresol	desgl.	+	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—[2]

[1] Durchweg reichliches Wachstum.
[2] Nur Wachstum eines oder vereinzelter Keime.

In Bouillon übertragenes reines Kresol hemmt also die Entwicklung von Keimen, die durch das Desinficiens geschädigt sind, stark und läßt gar kein oder nur unregelmäßiges Wachstum aufkommen. Da bei der Suspensionsmethode eine Entfernung des Desinficiens nicht möglich ist, so erscheint es sehr wahrscheinlich, daß auch hier das verimpfte Kresol wachstumshindernd wirkt und öfters eine nicht eingetretene Abtötung vortäuscht.

Nun konnte diesem Einwand begegnet werden mit dem Hinweis, daß es sich bei Desinfektionsversuchen überhaupt nur um Vergleichsversuche handle und die Versuchsfehler allenthalben die gleichen seien. Es erscheint aber an sich schon strittig, ob die Versuchsanordnung nicht besser so gestaltet wird, daß wirkliche, absolute oder ihnen angenäherte Werte erhalten werden. Außerdem aber kann man Vergleiche bei Versuchen nur ziehen, wenn wirklich in allen Fällen die Versuchsfehler bei der Methode die gleichen sind. Aber das ist bei verschiedenen Kresolpräparaten keineswegs der Fall, da bei diesen Mitteln immer vorauszusetzen ist, daß in einzelnen von ihnen außer den Kresolen noch Stoffe enthalten sind, die das Wachstum der Bakterien im Nährmedium noch stärker beeinträchtigen, als das reine Kresol, nämlich Kohlenwasserstoffe und höhere Phenole.

Um das zu zeigen, wurde reines Kresol in einem Falle mit 5% Teeröl, in einem anderen mit 5% Xylenol, einem höheren stark baktericid und wachstumshemmend wirkenden Homologen des Kresols, versetzt und beide Zubereitungen, sowie das reine Kresol ohne Zusatz, in Seifenlösung in gleichem Verhältnis gelöst zu 0,45 bezw. 0,7% enthaltenden Lösnngen. Der Desinfektionsversuch mit Batiststückchen — siehe Tabelle VI — zeigt keinen Unterschied der Wirkung der 0,45%igen Lösungen; reines Kresol in der Seifenlösung wirkte etwa ebenso stark als die Kresollösungen mit den Zusätzen.

Werden aber mit den drei Präparaten in 0.35%igen Lösungen Versuche an ziemlich dichten Staphylokokken-Suspensionen angestellt, so zeigt sich ein ganz erheblicher Unterschied in der Wirkung der Präparate: reines Kresol tötete in 120 Minuten Staphylokokken nicht ab, das Wachstum blieb vielmehr bis zur letzten Entnahme sehr kräftig, bei den Teeröl und Xylenol enthaltenden Lösungen aber war das Wachstum von Anfang an schwach, trat nur vereinzelt auf und hörte bei dem einen Präparat nach 50 Minuten Einwirkung, bei dem anderen nach 80 Minuten ganz auf.

Dieses Versuchsergebnis kann gar nicht anders gedeutet werden, als daß der Zusatz von Kohlenwasserstoffen bezw. von Xylenol zu dem Kresol, also Stoffen, die stark entwicklungshemmend wirken, die Folge hatte, daß die durch die Kresolwirkung geschädigten Staphylokokken auf Agar sich nicht mehr entwickelten, ohne aber abgetötet zu sein, denn wie der Batistversuch zeigt, haben die Kresole mit diesen Zusätzen keineswegs eine stärker keimtötende Kraft als das reine Kresol; Abtötung wird also bei der Suspensionsmethode vorgetäuscht und an sich keineswegs höherwertige Präparate mit gewissen Zusätzen oder Verunreinigungen können bei dieser Methode den Eindruck stärker wirkender Desinfektionsmittel machen. Dies zeigt aber auch, daß die Suspensionsmethode keineswegs den Namen einer Vergleichsmethode verdient, aus dem Grunde, weil sie mit zu starken Fehlerquellen arbeitet.

Diese Zusätze von Teerölen und Xylenolen zu dem Kresol sind nun keineswegs praktisch nie vorkommende Konstruktionen für den Zweck dieser Beweisführung. Teerölhaltige Kresolpräparate sind sogar sehr häufig im Handel, namentlich die

englischen und amerikanischen Kresolpräparate, die trübe Emulsionen in Wasser geben, das Creolin, Cyllin usw., enthalten neben Phenolen recht erhebliche Mengen von Teerölen; und ebenso sind Kresolpräparate, in denen sich noch Anteile der höheren Homologen des Kresols, der Xylenole, Äthylphenole usw. finden, also noch höher siedende Phenole, keineswegs selten; einige der in Deutschland besonders bekannten Präparate enthalten vielmehr noch höhere Phenolfraktionen als sie für die offizinelle Kresolseifenlösung vorgesehen sind.

Um den Einfluß einer ungeeigneten Prüfungsmethodik auf die Bewertung der Desinfektionsmittel zu zeigen, wurden noch vergleichende Versuche mit Teeröle enthaltenden Phenolpräparaten nach der Batist- und der Suspensionsmethode angestellt, nämlich mit Creolin und Cremulsion — siehe Tabelle III, S. 704/5, vorletzte Gruppe. —

Die dabei angewandte Staphylokokkensuspension war außerordentlich dicht, so daß, wie ein paralleler Versuch zeigt, die Staphylokokken durch 1%ige reine Kresollösung nicht in 30 Minuten abgetötet waren, während sie bei weniger dichten Aufschwemmungen durch 0,4 und 0,5% Kresol enthaltende Lösungen in dieser Zeit schon abgetötet wurden; die angewandten Staphylokokken waren keineswegs hervorragend resistent, denn sie wurden durch 1%ige Kresollösung im gleichen Versuch an Batiststückchen schon in 10 Minuten entwicklungsunfähig gemacht.

Mit dieser sehr dichten Suspension, die also nach Analogie des Versuchs mit reiner Kresollösung, bei Anwendung von Suspensionen erst viel später hätte Abtötung ergeben dürfen als die entsprechenden Batiststückchenversuche, wurden nun im Versuch mit Aufschwemmungen viel günstigere Ergebnisse erhalten als mit den Staphylokokken an Battist, offenbar aus der gleichen Ursache wie bei den vorerwähnten Versuchen, weil nämlich die mit den Keimen auf Agar verimpften Kohlenwasserstoffe das Wachstum der geschädigten Staphylokokken hinderten, während im Batistversuch ihre Wirkung durch die Abspülung ausgeschaltet war.

Auf dem gleichen Versuchsfehler beruht auch die Angabe Stolpes[1], daß Creolin in 5%iger Lösung Milzbrandsporen in 6 Stunden abtöte; denn die aus der Suspension in der Creolinlösung in die Nähr-Bouillon verimpften Sporen unterliegen in dieser der Entwicklungshemmung durch die mitübertragenen Kohlenwasserstoffe. In der Tat werden Milzbrandsporen nicht durch vieltägige Einwirkung auch von stärkeren Creolinlösungen ihrer Entwicklungsfähigkeit beraubt, wenn sie vor der Verimpfung von anhaftendem Desinficiens befreit werden. Auch hier zeigt sich, zu welch bedenklichen Konsequenzen eine durchaus ungeeignete Prüfungsmethodik bei Übertragung der Ergebnisse in die Praxis führen kann.

Die Suspensionsmethode läßt also die Wirkung von Desinfektionsmitteln, die keineswegs starkes Keimtötungsvermögen haben, viel zu günstig erscheinen; denn es leuchtet ein, daß bei der Anwendung der üblichen dünnen Bakterienaufschwemmungen schon erheblich verdünntere Lösungen von Creolin und Cremulsion bei der Suspensionsmethode zu scheinbarer Sterilität geführt hätten, während bei der Batistmethode stärkere Lösungen keineswegs ein sehr günstiges Ergebnis hatten.

Die Versuche zeigen auch, was von den Ergebnissen der Lancet- und ähnlicher in England und Amerika üblicher Prüfungsmethoden, die mit Keimsuspensionen und Abimpfung ziemlich großer Proben in flüssige Nährmedien arbeiten, zu halten ist; bei dieser Arbeitsweise erscheinen gerade minderwertige Teerölpräparate als recht gut wirksam und erhalten hohe Indexzahlen, während das ungleich bessere Lysol ihnen weit nachzustehen scheint.

[1]) Stolpe, Zeitschr. f. Hyg. 76, 171, 1914.

Die Suspensionsmethode erweist sich somit an Genauigkeit der Batistmethode auch deswegen nachstehend, weil bei ihr im Gegensatz zu der letzteren die Aufhebung der hemmenden Wirkung mitverimpften Desinfektionsmittels nicht möglich oder sehr erschwert ist.

Welche Schlußfolgerungen daraus für die Prüfung der Ersatzpräparate für Kresolseife zu ziehen sind und welche Ergebnisse die vergleichenden Versuche nach beiden Methoden mit solchen Mitteln hatten, soll in der nächsten Mitteilung besprochen werden.

Versuche mit verschiedenen Keimträgern.

Im Anschluß an diese Versuche möge noch das Ergebnis einiger Untersuchungen über den Einfluß der Adsorption der Keime an verschiedene Keimträger auf den Ausfall der Desinfektionsversuche mitgeteilt werden.

Zur Anwendung kamen als Keimträger: Filtrierpapier, Mull, wie er zu Verbandstoffen benutzt wird, feiner, ganz durchsichtiger Batist, gröberer Wäschebatist, Drell aus Laboratoriumsmänteln, Turners Seidenfäden Stärke 16, Wolltuch aus feldgrauen Uniformen und die nach Paul und Krönig vorbereiteten Granaten. Beladen wurden diese Stoffe mit denselben Aufschwemmungen; nach der Entnahme aus den desinfizierenden Lösungen wurden die Batist-, Mull- und Papierstückchen in der früher beschriebenen Weise mit 1 ccm schwach alkalisch gemachten sterilen Wassers zur Entfernung des anhaftenden Desinfektionsmittels betropft, Drell, Granaten und Wolle aber in etwa 30 ccm sterilen schwach alkalisch gemachten Wassers für eine Stunde eingelegt, damit das an den Keimträgern haftende Desinfektionsmittel durch teilweisen Übergang in die Lösung auf eine unschädliche Konzentration herabgesetzt wird; verimpft wurde in Bouillon.

Verhältnismäßig am raschesten trat Abtötung an Granaten, Papier, Mull und feinem Batist ein — siehe Tabelle VII und VIII —, also Stoffen von geringer Dichte und Tiefe, daher auch schwächer entwickelter Oberfläche, von denen weniger Keime aufgenommen wurden, als von den dichteren Stoffen, dem gröberen Batist, dem Drell und namentlich der über einen Millimeter starken Wolle. Bei diesen dichteren Stoffen trat die Wirkung später ein, zwischen dem gröberen Batist, dem Drell und den Seidenfäden bestanden nur geringe Unterschiede, namentlich wenn nicht zu schwache, sondern 1%ige Kresollösungen zur Verwendung kamen. Dagegen erscheinen die Staphylokokken an Wolle sehr resistent, Abtötung trat an dieser bei Verwendung 1%iger Lösungen erst nach $2^1/_2$—$4^1/_2$stündiger Einwirkung ein.

Daß für die großen Unterschiede in der Haltbarkeit der Keime an diesen Stoffen, besonders an den dichteren, dem Drell, der Wolle und den Seidenfäden nur die Unterschiede in der Keimzahl als Ursache anzunehmen sind, ist wenig wahrscheinlich. Es wurde aber, um diese Unterschiede in der Keimaufnahme infolge der verschiedenen Dichtigkeit und Oberfläche der Stoffe auszugleichen, versucht, alle Stoffe gleichmäßig stark zu infizieren, indem für die Imprägnierung von Granaten, Papier, Mull und feinem Batist entsprechend dichtere Suspensionen verwendet wurden. Das Ergebnis war indes nicht befriedigend, weil das Aufnahmevermögen dieser Stoffe für Keime zu gering ist und immer noch viel von der Suspension übrig blieb, so daß eine gleichmäßige Beschickung aller Objekte mit möglichst gleichen Keimmengen nicht möglich war. Daß eine chemische Bindung des Kresols aus der Lösung an die Substanz des Keimträgers die Wirkung bei den dichteren Stoffen herabdrückte, ist bei den angewandten Mengenverhältnissen zwischen den Stoffen und der Lösung nur bei den Seidenfäden und der

Tabelle VII.

Einwirkung von Kresollösungen auf Staphylokokken an verschiedenen Stoffen (Keimträgern).

Konz. an Kresol %	Art der Lösung	Baktorienart und Stamm	Als Keimträger benutzter Stoff	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten																
				10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	150	165	180	210	240	270	[illegible]
0,6	Kresol in Wasser	Staph. N	Mull	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—							
			Batist fein	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
			Batist grob	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—							
			Drell	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—							
		Staph. Z	Mull	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—							
			Batist fein	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—							
			Batist grob	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—							
			Drell	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
0,75	Kresol in Wasser	Staph. Z	Batist fein	+	+	—	—	—	—	—	—									
			Drell	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—							
1,0	Kresol in Wasser	Staph. Wo, N und Z gemischt	Papier	—	—	—	—	—	—											
			Mull	+	—	—	—	—	—											
			Batist fein	—	—	—	—	—	—											
			Drell	—	—	—	—	—	—											
			Seidenfaden	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—							
			Wolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
1,0	Kresol in 1%iger Lösung von oleinsaurem Natrium	ebenso	Papier	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—							
			Mull	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+							
			Batist fein	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—							
			Drell	+	+	+	—	+	—	—	—	+	—							
			Seidenfaden	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+							
			Wolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
0,5	Kresol in Wasser	Staph Wo und N gemischt	Granaten											+		—	—	—	—	
			Papier											+	+	+	+	+	+	
			Mull													+	+	+	+	
			Batist fein													+	+	+	+	
			Drell													+	+	+	+	
			Wolle															+	+	
			Seidenfaden													+	+	+	—	
0,75	Kresol in Wasser	ebenso	Granaten	—	—	—	—	+	—	—	—									
			Papier	+	+	+	+	—	+	+	+									
			Mull	+	+	+	+	—	+	+	+									
			Batist fein	+	+	+	—	—	+	+	+									
			Drell			+	+	+	+	+	+	+	+							
			Wolle														+	+	+	
			Seidenfaden			+	+	+	+	+	+	+	+							
1,0	Kresol in Wasser	ebenso	Granaten	—	—	—	—	—	—											
			Papier	+	—	—	—	—	+											
			Mull	—	—	—	—	—												
			Batist fein	—	+	—	—	—	+											
			Drell	+	+	—	—	+	+											
			Wolle														+	+	—	
			Seidenfaden	+	+	—	—	—	—											

Fortsetzung von Tabelle VII.

Konz. an Kresol %	Art der Lösung	Bakterienart und Stamm	Als Keimträger benutzter Stoff	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten																
				10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	150	165	180	210	240	270	300
1,0	Kresol in Wasser	Staph. Wo und N gemischt	Granaten	—	—	—	—	—	—											
			Batist	—	—	—	—	—	—											
			Drell	+	—	—	—	—	—											
			Seidenfaden	+	+	—	—	—	—											
			Wolle											+	+	+	—	—		
1,0	Kresol in Form von Kresotin-Kresol	ebenso	Granaten	—	—	—	—	—	—											
			Batist	—	—	—	—	—	—											
			Drell	+	+	—	—	—	—											
			Seidenfaden	+	+	—	—	—	—											
			Wolle											+	—	—	—	—		
1,0	Kresol in Form von Kresolseife DAB 5	ebenso	Granaten	—	—	—	—	—	—											
			Batist	+	—	—	—	—	—											
			Drell	+	+	+	—	—	—											
			Seidenfaden	+	+	+	—	—	—											
			Wolle											+	+	—	—	—		

Wolle anzunehmen. Vielleicht sind bei diesen dichten Stoffen (Drell, Wolle, Seidenfäden) auch mechanische Ursachen beteiligt; für die Erklärung der verschiedenen Wirkung auf Staphylokokken an Granaten, Papier, Mull, feinem und gröberem Batist reicht jedenfalls die verschiedene Aufnahmefähigkeit dieser Stoffe für Keime völlig aus.

Über die Wirkung von desinfizierenden Lösungen auf Keime an Wolle wird in einer späteren Mitteilung ausführlicher berichtet werden.

An Granaten wurden die Staphylokokken durchweg früher abgetötet als an Batist und ähnlich verhielten sich in den meisten Versuchen auch Bacterium coli und Paratyphi B — siehe Tabelle VIII —. Zurückzuführen dürfte dieses Verhalten sein auf die wesentlich geringere Keimzahl an der im Vergleich mit den Batiststückchen glatten und verhältnismäßig geringen Oberfläche der Granaten, während mechanische Ursachen, nämlich schwerere Erreichbarkeit der aufgenommenen Keime durch die desinfizierende Lösung, wie erwähnt, beim Batst nicht wahrscheinllch sind.

Die Tabelle VIII enthält auch einen Versuch über das Keimtötungsvermögen verschieden starker Kresollösungen auf Staphylokokken an Granaten, nachdem die Abhängigkeit der Kresolwirkung von der Konzentration früher — siehe II. Mitteilung — in Versuchen mit Batist geprüft worden ist. Bei dem Granatenversuch erwies sich eine $^1/_4$ %ige Kresollösung auch in $5^1/_2$ Stunden unwirksam, eine 0,375 %ige tötete Staphylokokken in 3 Stunden, während sie in dieser Zeit bei den Batistversuchen nicht gewirkt hatte, eine $^1/_2$ %ige in 90 Minuten; von einer Konzentration von 1 % ab entspricht die Steigerung der Wirkung nicht mehr der Erhöhung des Gehalts der Lösungen an Kresol, wie dies auch bei den Batistversuchen gefunden wurde. — II. Mitteilung. —

Tabelle VIII.

Vergleich der Wirkung verschieden konzentrierter Kresollösungen auf Staphylokokken an Granaten und Bact. coli sowie Paratyphi B an verschiedenen Keimträgern.

Kresolkonz. %	Art der Lösung	Testobjekt und Keimträger	Wachstum nach einer Einwirkungszeit von Minuten 10	20	30	40	50	60	75	90	105	120	135	150	180	195	210
0,25	Kresol in Wasser	Staph. trocken Gran.						Abtötung nicht in 330 Minuten									
0,375	desgl.	desgl.														—	—
0,5					+	+	—	—	+	—	—	—					
0,75	desgl.	desgl.	+	—	—	+	—	—									
1,0	desgl.	desgl.	+	+	—	—	—	—									
1,25	desgl.	desgl.	+	—	—	—	+	—									
1,5	desgl.	desgl.	+	—	—	—	—	—									
2,0	desgl.	desgl.	—	—	—	—	—	—									
0,15	Kresol in Wasser	Bact. coli Gran.						Abtötung in 240, nicht in 225 Min.									
		„ „ Batist						„ nicht in 240 Minuten									
0,2	desgl.	„ „ Gran.								—	—	—	—	—			
		„ „ Batist															—
0,25		„ „ Gran.	+	+	—	—											
		„ „ Batist			+	+	+	+	+	+							
		„ „ Drell			+	+	+	+	+	+							
		„ „ Wolle						Abtötung nicht in 270 Minuten									
0,15	Kresol in Wasser	Paratyph. B Gran.						„ „ „ 240 „									
		„ „ Batist						„ in 240, nicht in 225 Min.									
0,2	desgl.	„ „ Gran.								+	+	—	—	—			
		„ „ Batist															—
0,25	desgl.	„ „ Gran.	+	+	—	—											
		„ „ Batist			+	+	+	+	—	—	—						
		„ „ Drell			+	+	+	+	+	+	+						
0,2	Kresol in Wasser	Bact. coli Gran.								+	+	+	+	+	—	—	
		„ „ Batist												+	+	—	
0,25	desgl.	„ „ Gran.						—	—	—	—	—	—				
		„ „ Batist										—	—	—	—	—	
		„ „ Susp. (Agar)						+	+(5)	—	—	—					
0,2	Kresol in Wasser	Paratyph. B Gran.								+	+	+	+	+	+		
0,25	desgl.	„ „ „			+	+	+	+	+	+							
		„ „ Susp.	+++	+++	++	+++	+++	++	++	—							

Versuche mit verschiedenen Keimarten an Granaten nach der Methode von Paul und Krönig.

Die Batistmethode ergibt Abtötung erst durch verhältnismäßig hohe Konzentrationen, bei der Suspensionsmethode hängt die wirksame Konzentration so sehr von der Dichte der Bakterienaufschwemmung ab, daß über den Einfluß der Konzentration auf das Keimtötungsvermögen den Versuchen wenig entnommen werden kann; doch scheinen schon niedere Konzentrationen einen erheblichen Teil der Keime abzutöten.

Am geeignetsten für die Prüfung des Einflusses der Konzentration auf die Desinfektionswirkung erscheint a priori die Granatenmethode, die unter Ausscheidung von zahlreichen Fehlerquellen den Abfall des Keimgehalts durch Auszählung der auf Agar gewachsenen Kolonien zu verfolgen gestattet. Die Keimzahl an den Granaten ist, wie erwähnt, wesentlich geringer als an Batist anzunehmen, sie beträgt aber doch bei Verwendung einer halbwegs dichten Suspension zur Beschickung mehr als 100000 auf 5 Granaten.

Die Versuche, über die hier berichtet ist, machten es sehr wahrscheinlich, daß gegen höhere Konzentrationen von Kresol sich überhaupt nur wenige Keime resistent verhalten, daß der größte Teil schon durch 0,75%ige Lösungen sehr schnell abgetötet wird, daß also schon schwächere Lösungen starke Wirkung entfalten müssen. Aber über die niederste schädigende Kresolkonzentration, die Resistenzunterschiede innerhalb der Keime einer Kultur und ähnliche Punkte war den Batist- und Suspensionsversuchen nichts zu entnehmen. Die Fragen,

bei welcher Konzentration beginnt eine nennenswerte Wirkung von Kresol gegenüber den verschiedenen Keimarten?

wie erfolgt die Abstufung der Wirkung im Verhältnis zur Konzentration? bedingen kleine Konzentrationsunterschiede schon erhebliche Unterschiede in der Absterbegeschwindigkeit oder besteht einigermaßen Proportionalität zwischen Konzentration und Wirkung?

in welchem Verhältnis stehen die resistenten Keime etwa zur Gesamtzahl? sind es eine größere Zahl von Keimen, die auch während längerer Zeit die Einwirkung höherer Konzentration überdauern, oder nur wenige?

können am besten mit Hilfe der Granatenmethode geklärt werden.

Dann sollten dabei einige Fragen in bezug auf die Anwendbarkeit der Granatenmethode gelöst werden.

Paul und Krönig hatten Milzbrandsporen, Paul mit Prall, Birstein, Reuss und Klocman Staphylokokken an Granaten angetrocknet. Aufbewahrt wurden die Milzbrandsporengranaten von diesen Autoren im Eisschrank, die mit Staphylokokken bei der Temperatur der flüssigen Luft, später in einem Gemisch von Kohlensäure und Äther.

Nun schien es mir zunächst prüfenswert, ob sich die Widerstandsfähigkeit der Staphylokokken gegen chemische Mittel durch das Antrocknen wesentlich ändert, wie sich also dieselbe Abschwemmung von Staphylokokkenkulturen an Granaten in feuchtem und angetrocknetem Zustand gegen Kresollösungen verhält, ob die feuchten oder die getrockneten Keime resistenter sind; ferner ob sich auch andere insbesondere gramnegative Keimarten für die Versuche nach der Paul und Krönigschen Methode eignen, ob sie vor allem das Antrocknen überhaupt ohne wesentliche Schädigung ertragen.

Es wurden daher Versuche mit derselben Staphylokokkenkulturabschwemmung an Granaten in feuchtem und zwei Tage später in getrocknetem Zustand angestellt. Die Versuche sind in der Tabelle IX zusammengestellt, in der die eine Vertikalreihe die Versuche mit feuchten, die andere diejenigen mit trockenen Keimen enthält und jeweils gleiche Konzentrationen und gleiche Zeiten parallel angeordnet sind.

Vorweg sei bemerkt, daß bei der beschränkten Menge der mir zur Verfügung stehenden Granaten nicht die peinliche Auswahl, die Aussonderung aller rissigen oder rauhe Flächen ent-

haltenden Granaten von den Versuchen, getroffen werden konnte, die an sich wünschenswert ist, um die Keimzahl allenthalben gleich zu halten. Freilich sind nach meinen früheren Erfahrungen bei den Versuchen mit schwefliger Säure die Versuchsergebnisse bei Anwendung von Staphylokokken nie so glatt, wie bei Versuchen mit Milzbrandsporen; mit diesen sind auch in meinen jetzigen Versuchen mit dem unvollkommenen Granatenmaterial die Ergebnisse regelmäßiger. Bei Versuchen mit Staphylokokken aber ergeben sich immer zwischen den einzelnen Schalen in der gleichen Versuchsreihe größere Unterschiede in der Keimzahl, die auf Verschiedenheiten im ursprünglichen Keimgehalt beruhen müssen.

Entnommen wurden jeweils 15 Granaten, die nach dem Waschen zu je 5 in drei Röhrchen mit Wasser verteilt und gut geschüttelt wurden. Mit jedem der Röhrchen wurde dann je eine Platte gegossen, so daß jeder Entnahmezeit drei Keimzahlen, aus denen, wenn möglich, das Mittel gezogen wurde, entsprechen.

Die Versuche in Tabelle IX zeigen nun, daß 0,25% Kresol enthaltende Lösungen auch in drei Stunden nicht die Staphylokokken abgetötet haben, daß sich vielmehr die Keimzahlen während dieser Zeiten sowohl bei den feuchten als den trockenen Staphylokokken auf sehr großer Höhe erhielten und eine Auszählung nicht möglich war.

Dagegen hatte die 0,5%ige Lösung, die nächstdem bei den feuchten Granaten zur Anwendung kam, schon in $2^1/_2$ Minuten den Keimgehalt sehr stark herabgesetzt und von 5 Minuten Einwirkungszeit ab waren nur noch vereinzelte Kolonien gewachsen, doch entwickelten sich auch nach 60 Minuten Einwirkung fast in jeder Platte noch Kolonien. Bei den Versuchen mit trockenen Staphylokokken wurde daher zwischen die Versuche mit $^1/_4$- und $^1/_2$%iger Lösung ein solcher mit 0,375%iger eingeschaltet; bei diesem war die Keimzahl an den Granaten erst nach 10 Minuten Einwirkungszeit auf einen auszählbaren Grad abgesunken und verminderte sich aber von da ab weiterhin ziemlich rasch. Der Übergang von fast fehlender zu annähernd vollständiger keimtötender Kraft erfolgt bei Kresol also sehr schnell, innerhalb einer Konzentrationssteigerung um das doppelte, indem 0,25%ige Kresollösungen auch in 3 Stunden kaum merklich, 0,5%ige in $2^1/_2$ Minuten fast alle Keime abtöteten. Obschon nach 45 Minuten währender Einwirkung der 0,375%igen Lösung der Keimgehalt auf nur wenige Individuen zurückgegangen war, ließen sich aber auch nach 105 Minuten immer noch vereinzelte Keime nachweisen. Ähnlich verhielten sich auch die stärkeren Lösungen, die 0,5, 0,75 und 1,0%ige: schon nach $2^1/_2$ Minuten waren nur noch wenige Staphylokokken aus dem ursprünglichen recht hohen Keimgehalt entwicklungsfähig, aber noch nach 45 Minuten waren fast in jeder Versuchsreihe noch Kolonien auf den Platten vorhanden. Die Zahl der resistenten Keime an je 5 Granaten war demnach im Verhältnis zu dem ursprünglichen Keimgehalt sehr gering, geringer als bei den Versuchen mit schwefliger und Schwefelsäure, aus denen oben einige Angaben angeführt sind.

Diese Befunde erklären die Unstimmigkeiten zwischen der Batist- und Suspensionsmethode sehr gut: Eine nennenswerte Wirkung des Kresols auf Staphylokokken beginnt in etwa 0,35%igen Lösungen, aber schon bei 0,5%igen ist die keimtötende Kraft so stark, daß nach einer Einwirkungszeit von $2^1/_2$ Minuten nur noch vereinzelte Keime lebensfähig sind, und derart resistente Keime überdauern auch stärkere, ja 1%ige Lösungen bei langer Einwirkungszeit. Wenn die Suspensionsmethode daher eine Abtötung durch Kresollösungen schon in niederen Konzentrationen ergab, so rührt das Verschwinden der resistenten Keime daher, daß ihre in der Tat geringe Zahl bei

Tabelle IX.

Versuche mit Staphylokokken an Granaten, in feuchtem und trockenem Zustand nach der Methode von Paul und Krönig.

Einwirkungszeit Minuten	Granaten frisch imprägniert, feucht. Keimzahl in 1. Schale	2. Schale	3. Schale	Keimzahl im Mittel	Granaten getrocknet. Keimzahl in 1. Schale	2. Schale	3. Schale	Keimzahl im Mittel
	0,25 % Kresol in Wasser				0,25 % Kresol in Wasser			
15—180	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
					0,375 % Kresol in Wasser			
2½					∞	∞	∞	∞
5					∞	∞	∞	∞
					(Abnahme der Dichte auf etwa die Hälfte)			
7½					∞	∞	248 + 3	
					(Abnahme auf etwa 1/8)			
10					223 + 3	178 + 4	321 + 3	244
15					57 + 4	81 + 5	(537)	74
20					7 + 5	87 + 3	83 + 4	63
25					16 + 4	12 + 2		17
30					12 + 2	74 + 5	(399)	47
45					4	1 g	2 g	2
60					1	2 g	0	1
75					4 g	0	0	1
90					0	2	1 g	1
105					0	0	1 + 1 g	1
	0,5 % Kresol in Wasser				0,5 % Kresol in Wasser			
2½	42 + 4	27 + 4	(∞)	39	19 + 3	1 + 3	(224 + 3)	13
5	2 + 1	5 + 2	4 + 3	6	3 + 1	2 + 1	(142 + 2)	3
7½	0	0	1	1	18 + 1	1	65 + 3	29
10	1 g	1 g	2 g	1	4 + 1	1 + 1	2 + 2	4
15	0	2	1 + 1	1	0	1 g	0	1
20	2	5	3 + 2	4	1	0	(34 + 2)	
25	2	3	0	2	3	1 g	0	1
30	2	1	0	1	0	1 g	0	1
45	0	1	0	1	0	1	0	1
60	1	2		1	0	1 g	0	1
	0,75 % Kresol in Wasser				0,75 % Kresol in Wasser			
2½	0	9	0		1 g	2 + 1	(454)	2
5	1	1	2	1	1 g	4	(24 + 3)	2
7½	0	1	1	1	0	0	0	0
10	2	1	2	1	1	1 g	0	1
15	2	0	1	1	1	1	0	1
20	1	3	2	2	(13 + 1)	1	2	2
25					0	2	2	1
30	1	2	0	1	1	0	0	1
45					0	0	0	0
60					0	0	0	0
	1,0 % Kresol in Wasser				1,0 % Kresol in Wasser			
2½	0	2	0	1	3 + 1	0	0	1
5	2	1	8	4	0	0	0	0
7½	1	3	2	2	0	0	0	0
10	1	2	0	1	0	1 + 1	1 + 1	1
15	0	1	0	1	0	0	1	0
20	0	1	3	1	2 + 1	0	1	1
25					0	0		0
30	1	1	0	1	2	0	1 g	1
45					0	1	0	1
60					0	0	0	0

der geringen Dichte der Suspension bei den Entnahmen nicht erfaßt wurde, oder, wenn dies doch der Fall war, die überlebenden Keime infolge der Mitverimpfung von Desinficiens nicht immer zum Wachstum kamen. Übrigens tauchen ja auch in den Versuchsreihen der Suspensionsversuche bei späteren Entnahmen immer wieder positive „Ausnahmebefunde" auf. An den Batiststückchen mit ihrem auch im Verhältnis zu den Granaten viel größeren Keimgehalt aber befinden sich jeweils mehrere resistente Keime und so trat bei ihrer Anwendung Wachstum auch bei 1%igen Lösungen regelmäßig noch nach langer Einwirkungszeit ein.

Sind auch die widerstandsfähigen Keime in der Kultur sehr in der Minderzahl, so wird sich doch auf ihr Verhalten — dieses Urteil bleibt auch nach dem Ausfall dieser Versuche bestehen — als dem der eigentlich infektionsgefährlichen, die Wahl von Konzentration und Einwirkungszeit aufbauen müssen. Für die Feststellung des Verhaltens resistenter Keime sind die mit der Suspensionsmethode erhaltenen Ergebnisse nun aber keineswegs ausreichend. Da diese Methode die resistenten Keime außer Betracht lassen muß, so gibt sie auch keine mit Rücksicht auf die praktische Anwendung vergleichbaren Ergebnisse, denn es ist keineswegs erwiesen, daß die Wirkung zweier Mittel auf die Hauptmasse der Keime und die wirklich resistenten parallel geht; sondern es ist sehr wohl möglich, daß der eine Stoff den größten Teil der Keime sehr schnell abtötet, die widerstandsfähigen aber erst nach sehr langer Zeit, der andere aber gegenüber den schwächeren Keimen langsamer wirkt als der erste, daß aber ihrer Abtötung auch die der resistenten bald folgt. Der Suspensionsversuch, der nur die Einwirkung auf die schwächer resistenten zur Erscheinung bringt, würde also in diesem Falle ein ganz falsches Bild von dem Desinfektionswert der beiden Mittel geben.

Was die methodische Frage des Einflusses des Trocknens der Staphylokokken auf die Widerstandsfähigkeit anlangt, so läßt sich aus den Versuchen weder ableiten, daß die Resistenz durch die Trocknung größer, noch daß sie geringer geworden sei.

Die Keimzahl nimmt beim Trocknen nach den Feststellungen von Paul und Prall ab, aber es handelt sich dabei hauptsächlich eben um die Keime, welche auch dem Einfluß des keimtötenden Mittels zuerst erliegen würden und deren Verschwinden daher sich bei diesen Versuchen gar nicht geltend macht. Die Zahl der eigentlich resistenten Keime hat sich jedenfalls beim Trocknen nicht verringert.

Mit Bacterium coli und Paratyphi B wurden je zwei parallele Versuche vorgenommen — s. Tabelle X —, in einer Reihe mit 0,15 und 0,2%igen, in der anderen mit 0,2 und 0,25%igen Lösungen. Da diese Konzentrationen die Keimzahlen sehr stark herabsetzen, erscheinen diese beiden Bakterienarten auch bei dieser Methodik gegen Kresol weit empfindlicher als Staphylokokken, die durch 0,25%ige Lösungen in 180 Minuten nicht sehr geschädigt wurden — s. Tab. IX —. Von den hier angewandten Stämmen erwies sich der Paratyphus-B-Stamm gegen Kresol widerstandsfähiger, als der Colistamm. Die Kolonien von den beiden Keimarten waren am zweiten und dritten Tag sehr gut auszählbar. Später zeigten die Oberflächenkolonien Neigung, zusammenzufließen. Ähnlich verhielten sich in anderen Versuchen auch die Typhusbacillen.

Tabelle X.
Einwirkung verschieden starker Kresollösungen auf Bact. coli und Paratyphi B an Granaten.

Einwirkungszeit Min.	Keimzahlen bei Versuchen mit Bacterium coli				Einwirkungszeit Min.	Keimzahlen bei Versuchen mit Bact. Paratyph. B			
	1. Schale	2. Schale	3. Schale	im Mittel		1. Schale	2. Schale	3. Schale	im Mittel
	0,15 % Kresol in Wasser, Granaten I					0,15 % Kresol in Wasser, Granaten I			
5	1430	364 + 5	524	774	5	4400	4000	3500	3900
10	724	406	627	586	10	2600	4000	3800	3400
20	361 + 3	420 + 5	312 + 5	369	20	1700	2900	4300	2900
	0,2 % Kresol in Wasser					0,2 % Kresol in Wasser			
2,5	(2190)	615 + 4	139 + 5	382	2,5	1870	2500	2200	2190
5	324 + 5	194 + 4	246 + 5	259	5	73	182	(3210)	128
10	86 + 3	364 + 3	63 + 4	174	10	22 + 2	162 + 2	241 + 3	144
	0,2 % Kresol in Wasser, Granaten II					0,2 % Kresol in Wasser, Granaten II			
5	48 + 4	65 + 5	63 + 5	63	5	1250	8250	2900	4100
10	48 + 4	93 + 5	87 + 4	80	10	5000	6100	2400	4500
	0,25 % Kresol in Wasser					0,25 % Kresol in Wasser			
5	6 + 3	1 + 4	2 + 2	6	5	(1700)	284 + 5	111 + 5	203
10	1 + 2	1 + 2	1 + 5	4	10	274 + 4	76	154 + 5	171

Bei diesen beiden Keimarten scheint die Absterbekurve unter Kresolwirkung anders zu verlaufen als bei den Staphylokokken; der Absturz der Keimzahlen erfolgt weder mit der Zeit noch bei der Erhöhung der Konzentrationen mit solcher Vehemenz wie bei den Versuchen mit den Kokken; die Keimzahlen halten sich vielmehr nach einem anfänglich scharfen Rückgang dann während einiger Zeit auf ziemlich gleicherl Höhe. Wie bei den Staphylokokkengranaten bleibt schließlich auch hier eine kleine Zahl widerstandsfähiger Keime sehr lange am Leben, wie Tabelle VIII zeigt bei den Versuchen, die mit demselben Material unter Verimpfen von je 5 Granaten in Bouillon nach Waschen mit schwacher Alkalilösung angestellt sind. Daraus ergibt sich, daß 0,15%ige Lösungen Coli- und Paratyphusbacillen nicht in 4 Stunden völlig abgetötet haben, daß die Abtötung durch 0,2%ige Kresollösungen in derselben Versuchsreihe dagegen bei Bact. coli in längstens 90, bei Paratyphusbacillen in 120 Minuten eingetreten war. Bei dem zweiten Versuch wurden Colibacillen durch 0,2%ige Lösungen in 180 Minuten, durch 0,25%ige in längstens 60 Minuten abgetötet, nachdem durch die stärkere Lösung der Keimgehalt der Granaten schon in 10 Minuten auf wenige zurückgegangen war — siehe Tabelle X —. Bei den Paratyphusversuchen genügten nicht 180 bezw. 120 Minuten zur Abtötung, wie auch der Keimgehalt der Granaten nach 10 Minuten Aufenthalt in beiden Lösungen noch ein recht hoher war.

Ein Suspensionsversuch ergab dabei Abtötung sowohl der Coli- als der Paratyphus-Bacillen durch 0,25%ige Lösungen — siehe Tabelle VIII — in 90 Minuten. Man

würde daraus folgern, daß sich beide Keimarten gegenüber Kresol gleich verhalten und daß 0,25%ige Kresollösungen sie in gleicher Weise schädigen. Das widerspräche aber völlig den ungleich exakteren Versuchen mit Granaten und auch Batiststückchen, die eine größere Empfindlichkeit des angewandten Colistammes ergaben, und dieses Beispiel zeigt, daß die Suspensionsmethode nicht einmal Vergleichsergebnisse in bezug auf die Resistenz verschiedener Keimarten liefert, sondern daß ihre Resultate rein Funktionen der angewandten Keimmengen sind. Vermutlich kam das Ergebnis des vorliegenden Suspensionsversuches dadurch zustande, daß die gleichartig mit der Aufschwemmung der Paratyphus-B-Bacillen hergestellte Coli-Suspension dichter war als diese.

Bei der Antrocknung erhielten sich diese beiden Keimarten nicht lange lebensfähig; schon nach zwei Tagen war der größte Teil der Bakterien bei beiden Arten an den Granaten abgestorben und es wäre unzweckmäßig gewesen, mit diesem sichtlich geschädigten Material noch Desinfektionsversuche vorzunehmen.

Die Versuche mit Granaten haben somit ergeben, daß sich bei Staphylokokken mit dieser Methode der Abfall der Keimzahl unter dem Einfluß von Kresol sehr lange und unter Berücksichtigung der resistenten Keime verfolgen läßt, und daß auch die Antrocknung die Resistenz der Staphylokokken gegen Kresol nicht in sichtbarer Weise schädigt. In den Versuchen mit Coli- und Paratyphusbacillen wurde festgestellt, daß die Granatenmethode sich zu Versuchen mit diesen beiden Bakterienarten in feuchtem Zustand ebenfalls gut eignet, daß diese Keime aber die Antrocknung an Granaten nur schlecht ertragen; ebenso verhielten sich in anderen Versuchen auch Typhusbacillen.

Endlich weisen die Versuche noch darauf hin, daß anscheinend die Absterbekurven bei diesen beiden gramnegativen Keimarten wesentlich anders und zwar langsamer verlaufen, als bei den Staphylokokken, und daß sie von Konzentrationsdifferenzen nicht in dem hohen Maße beeinflußt werden wie diese.

Es liegt die Annahme nahe, daß dieser Unterschied, wie so mancher andere Desinfektionsmitteln gegenüber, damit zusammenhängt, daß die Staphylokokken gramfest, die beiden anderen Bakterienarten aber gramnegativ sind, doch soll auf diese Frage hier nicht näher eingegangen werden. Die Granatenmethode hat auch in diesen Versuchen ihre Brauchbarkeit zum Nachweis der Wirkung geringer Konzentrationsdifferenzen auf die Abtötungsgeschwindigkeit ergeben. Zur Feststellung der endgültigen Abtötungszeit wird man natürlich nicht den Plattenversuch, sondern die Verimpfung in Bouillon anwenden.

Zusammenfassung und Besprechung der Ergebnisse.

Abweichungen bei den Ergebnissen meiner Prüfungen von Ersatzpräparaten für Kresolseife von denen anderer Autoren gaben den Anlaß, eine eingehende vergleichende Untersuchung der beiden Hauptprüfungsmethoden für die Desinfektions-

wirkung chemischer Verbindungen, der Suspensions- und der Keimträgermethode, auszuführen.

Bei der Suspensionsmethode sind die Keime in der Desinfektionsmittellösung aufgeschwemmt und werden aus dieser nach bestimmten Zeiten in flüssige oder auf feste Nährmedien verimpft.

Bei der Keimträgermethode befinden sich die zu prüfenden Keime an festen Stoffen, werden an diesen in die desinfizierenden Lösungen eingebracht oder mit diesen übergossen, nach den vorgesehenen Einwirkungszeiten wieder aus den Lösungen entfernt und nach Beseitigung des anhaftenden Desinfektionsmittels in das Nährmedium überführt. Als solche Keimträger kommen viele feste Stoffe in Betracht: Metalle, Glas, Mineralien, Papier, Gewebe, Holz, Horn usw. Zweckmäßig verwendet man natürlich solche, die immer in gleichmäßiger Größe und Form zu beschaffen sind, von chemischen Desinfektionsmitteln nicht angegriffen werden, eine große Oberfläche haben und dadurch viele Keime aufnehmen können und im Nährmedium sich indifferent verhalten. Sehr geeignet erwiesen sich namentlich Baumwollgewebe und zwar der dünne und durchsichtige Battist sowie Granaten, die durch Aussieben in ziemlich übereinstimmender Größe erhalten werden können. Die Keime können an diesen Trägern in feuchtem und trockenem Zustand in die desinfizierenden Lösungen eingebracht werden. Die Verwendung feuchter Keime ist von besonderer Wichtigkeit, weil viele Keimarten nicht ohne starke Beeinträchtigung der Widerstandsfähigkeit angetrocknet werden können. Auch bei Versuchen mit Granaten kann man, wie hier gezeigt wurde, ohne Beeinträchtigung der Genauigkeit der Methode feuchte Keime bei nachträglicher Auszählung der überlebenden verwenden. Die Keime können nach Einwirkung des Desinfektionsmittels und seiner Entfernung durch Waschen oder Umsetzungen mit chemischen Stoffen mit dem Keimträger in das Nährmedium verimpft oder vorher von diesem entfernt werden, was bei den Granaten durch Absprengen vermittels Schüttelns mit Wasser geschieht.

Die Keimträgermethode hat vor der Suspensionsmethode nach dem Ausfall der Prüfung folgende Vorzüge:

1. Es können bei ihrer Verwendung größere Keimmengen der Wirkung des Desinfektionsmittels ausgesetzt werden; das ist nötig, weil die resistenten Keime nur einen kleinen Bruchteil der in einer Kultur vorhandenen bilden und die Feststellung der Wirkung des Mittels ihnen, als den vermutlich auch virulenten und darum praktisch gefährlichen gegenüber der Hauptzweck der Desinfektionswertprüfung sein muß. Bei der Suspensionsmethode aber können aus dem nächstdem zu erwähnenden Grunde nur dünne Aufschwemmungen, also eine verhältnismäßig kleine Zahl von Keimen, angewandt werden, so daß bei den einzelnen Entnahmen resistente Keime nur ausnahmsweise erfaßt werden und im wesentlichen nur das Verhalten der weniger widerstandsfähigen ermittelt wird, während das gelegentliche Wachstum eines verimpften resistenten nur als Ausnahmebefund erscheint.

2. Die Menge der Desinfektionsmittellösung kann bei der Keimträgermethode so groß gewählt werden, daß eine Konzentrationsverminderung in der Lösung durch Bindung an die Keime oder den Keimträger ausgeschlossen ist, während bei dichten

Suspensionen infolge der Verteilung des Desinfektionsmittels auf eine große Zahl von Keimen die auf den einzelnen entfallende Menge nicht immer zur Abtötung ausreicht und deswegen Suspensionen nur unter dem bei Punkt 1 erwähnten Nachteil der Benutzung nur einer verhältnismäßig kleinen Zahl von Keimen verwendet werden können.

3. Der keimtötende Stoff und andere in dem Desinfektionsmittel vorhandene Stoffe können von dem Keimträger vor der Verimpfung in das Nährmedium durch Abspülen oder chemische Umsetzungen entfernt und dadurch ihre entwicklungshemmende Wirkung im Nährmedium ausgeschlossen werden, während bei der Suspensionsmethode nicht allein die unvermeidliche Mitverimpfung des Desinfektionsmittels dessen Wirkung günstiger erscheinen läßt, sondern auch für die Desinfektionswirkung selbst unwesentliche Stoffe oder verunreinigende Beimengungen des Mittels infolge ihrer entwicklungshemmenden Wirkung — bei Kresolen besonders Kohlenwasserstoffe und höhere Phenole — eine Desinfektionswirkung vortäuschen, während es sich in der Tat nur um eine Hemmung des Wachstums der verimpften Keime unter ihrem Einflusse handelt.

4. Es können bei der Keimträgermethode die Versuchsbedingungen immer gleichartig gestaltet werden, während bei der Suspensionsmethode die Ergebnisse weitgehend beeinflußt werden von der Wachstumsdichte der Vorkultur, da diese für die Dichte der Suspension maßgebend ist.

5. Gibt die Keimträgermethode bei weitgehender Ausschaltung von Fehlerquellen durch Verimpfung einer großen Keimzahl, Beseitigung der entwicklungshemmenden Stoffe usw. nicht allein gute Vergleichsresultate, sondern bei Anwendung einer größeren Zahl resistenter Stämme und öfterer Wiederholung der Versuche auch bis zu einem gewissen Grade absolute und für die Praxis unmittelbar nutzbare Ergebnisse. Bei der Suspensionsmethode dagegen sind die Fehlerquellen so groß, daß nicht einmal beim Vergleich zweier ähnlicher Mittel in derselben Versuchsreihe von den Ergebnissen einer Vergleichsmethode gesprochen werden kann, wenn damit zu rechnen ist, daß das eine Mittel entwicklungshemmende Stoffe enthält. Es kann mit dieser Methode auch, wie die Versuche zeigten, nicht die Resistenz verschiedener Bakterienarten oder Stämme verglichen werden, da die Ergebnisse im allerhöchsten Maße von der Dichte der angewandten Aufschwemmung abhängen; dagegen gelingt dies sehr wohl mit der Keimträgermethode.

Die Unvollkommenheit der Suspensionsmethode kann aber auch weitgehende praktische Folgen haben. Bei ihrer Anwendung können nicht allein minderwertige Desinfektionsmittel besser wirksam erscheinen als stark wirkende, wie die Lancet- und ähnliche Methoden ja für die unreinen teerölhaltigen Präparate oft höhere Indexzahlen anzeigen als für die stärker wirkenden Kresolpräparate wie z. B. für Lysol, was in der Praxis zur Bevorzugung schlechter wirkender Präparate und zur Anwendung unzureichender Konzentrationen führen kann; sondern es wird unter Umständen einem Präparate auch eine Wirkung beigelegt, die es gar nicht besitzt, indem z. B. bei Versuchen mit den so besonders stark gegen entwicklungshemmende Stoffe empfind-

lichen Milzbrandsporen durch Behinderung der Entwicklung im Nährmedium eine Abtötung vorgetäuscht wird. In der Tat sind — wie die hier angeführten Versuche mit Creolin und Cyllin zeigen — eine Reihe günstiger Angaben über die Abtötung von Milzbrandsporen durch chemische Mittel nur auf verfehlte Prüfungsmethoden zurückzuführen. Es leuchtet ein, daß derartige Befunde praktisch verwertet verhängnisvoll wirken können.

Wenn diese Fehlerquellen nicht ausgeschaltet werden können, was bei Versuchen mit Kresolen nicht der Fall ist, ist die Suspensionsmethode durchaus ungeeignet sowohl für die vergleichende biologische Untersuchung verschiedener Stoffe oder Mittel wie für die Prüfung der Resistenz verschiedener Bakterienarten und Stämme, und sollte daher als Grundlage für die praktische Beurteilung eines Desinfektionsmittels nicht verwendet werden. In Betracht kommt für derartige Prüfungen nur die Keimträgermethode.

Als Keimträger sind namentlich Seidenfäden, Baumwollbatist, Granaten und Glasperlen empfohlen werden. Seidenfäden sind aber für eine allgemeine Anwendung bei der Desinfektionsmittelprüfung nicht geeignet, weil sie von stärkeren Laugen gelöst werden, mit Schwermetallsalzen, Formaldehyd, Phenolen und anderen Stoffen chemische oder Adsorptionsverbindungen geben, die durch Waschen nicht oder nur teilweise gelöst werden und bei der Übertragung in das Nährmedium infolge teilweiser Spaltung entwicklungshemmend wirken. Glasperlen sind nach Paul und Krönig weniger geeignet, weil sie von Lösungen schlecht benetzt werden. Dagegen haben sich sehr brauchbar erwiesen die von Paul und Krönig vorgeschlagenen böhmischen Granaten und die in der I. Mitteilung beschriebenen kleinen Stückchen durchsichtigen Baumwollbatists. Erstere haben den Vorzug, daß die Zahl der daran überlebenden Keime nach Absprengen im Plattenversuch durch Auszählung ermittelt werden kann (Auszählmethode) und zusammen mit der Feststellung der Lebensdauer der resistenten unter den behandelten Keimen durch Verimpfen in Bouillon (Endmethode) einen Maßstab für die Wirksamkeit des Mittels gibt. Durch die Feststellung dieser Absterbeordnung im Plattenversuch ist man imstande, den Einfluß geringer Abweichungen in der Konzentration, von Änderungen der chemischen oder physikalischen Konstitution, sowie von Zusätzen festzustellen, wobei freilich noch durch Versuche zu erweisen ist, ob die Geschwindigkeit des Abfalls des Gehalts der Granaten an schwächer resistenten Keimen auch immer derjenigen des Absterbens der resistenten Keime unter dem Einfluß derselben Konzentration des gleichen Mittels entspricht; ob also die resistenten Keime sich gegen dieselben Einflüsse ebenso verhalten, wie die mittelwiderstandsfähigen, deren Beeinflussung im Plattenversuch ermittelt wird. Das ist durchaus nicht als sicher vorauszusetzen. Die Batiststückchen haben dagegen vor den Granaten den Vorzug, daß sie eine erheblich größere Zahl, also auch mehr resistente Keime an sich aufnehmen, als die Granaten mit ihrer verhältnismäßig viel kleineren Oberfläche und daß daher das Ergebnis bei ihrer Anwendung den praktischen Ansprüchen am nächsten kommt.

Je nach Lage des Falls wird daher die Granaten- oder die Batiststückchenmethode anzuwenden sein, erstere aber stets unter gleichzeitiger Feststellung auch der

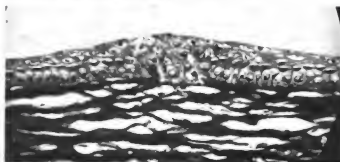
Absterbezeit für die resistenten Keime durch Verimpfen einer Anzahl Granaten in Bouillon. Die Batiststückchenmethode aber wird den Vorzug verdienen, wenn es sich um den Vergleich zweier Mittel mit Rücksicht auf die praktische Anwendbarkeit und um Ermittlung der anzuwendenden Konzentration handelt.

Bei dem größten Teil dieser Versuche bin ich durch die technische Assistentin, Frl. Margreth Mundt, in eifriger und sachkundiger Weise unterstützt worden.

Berlin-Dahlem, Ende Juli 1920.

Ende des 4. Heftes.
Abgeschlossen am 23. November 1920.

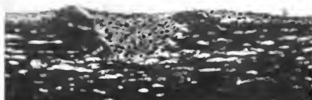
Druck von E. Buchbinder in Neuruppin.



1



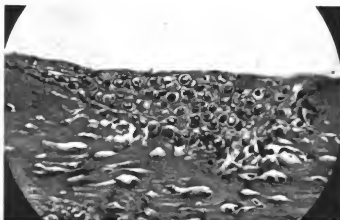
2



3



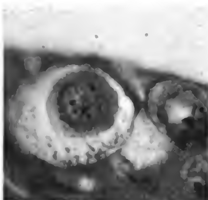
4



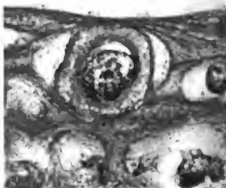
5



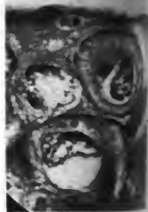
6



7



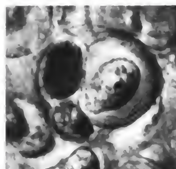
8

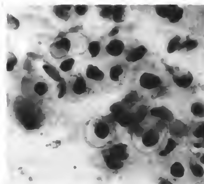


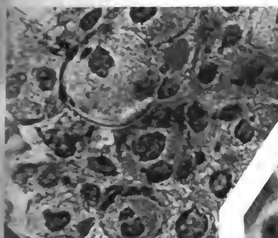
9

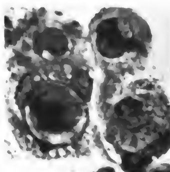
Ungermann & Zuelzer, Pockendiagnose.


10


11

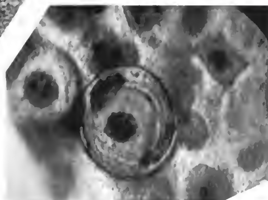

12

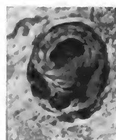

13

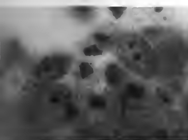

14

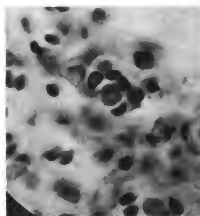

15

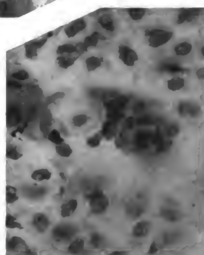

16


17


18

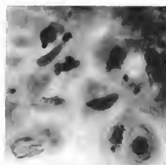

19


22

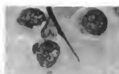

21

…er. München.

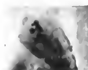
Verlag von Julius Springer in Berlin.



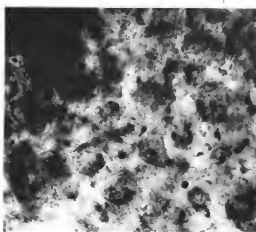
22



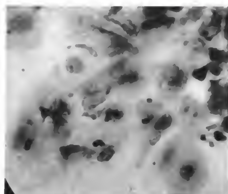
23



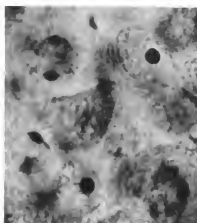
24



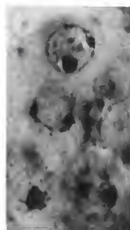
25



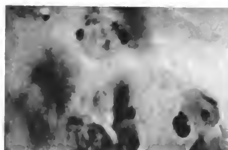
26



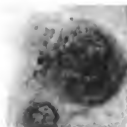
27



28



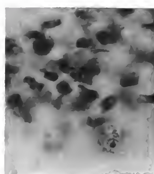
29



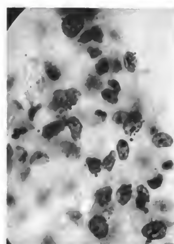
31



30

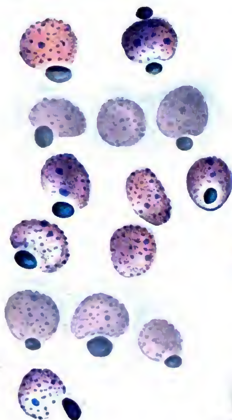


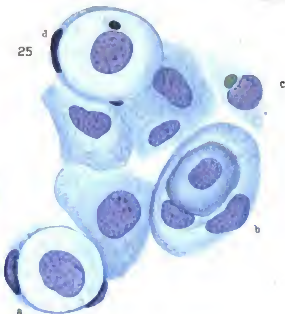
32

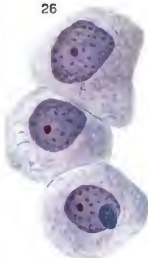


33

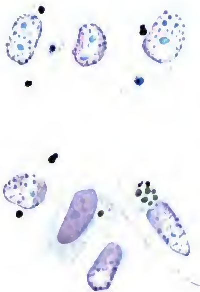
...ermann & Zuelzer, Pockendiagnose *[illegible]* *Verlag von Julius Springer in Berlin*

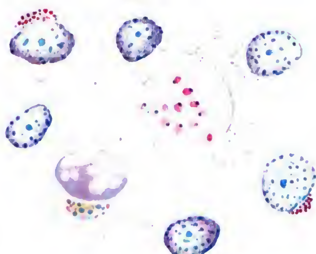






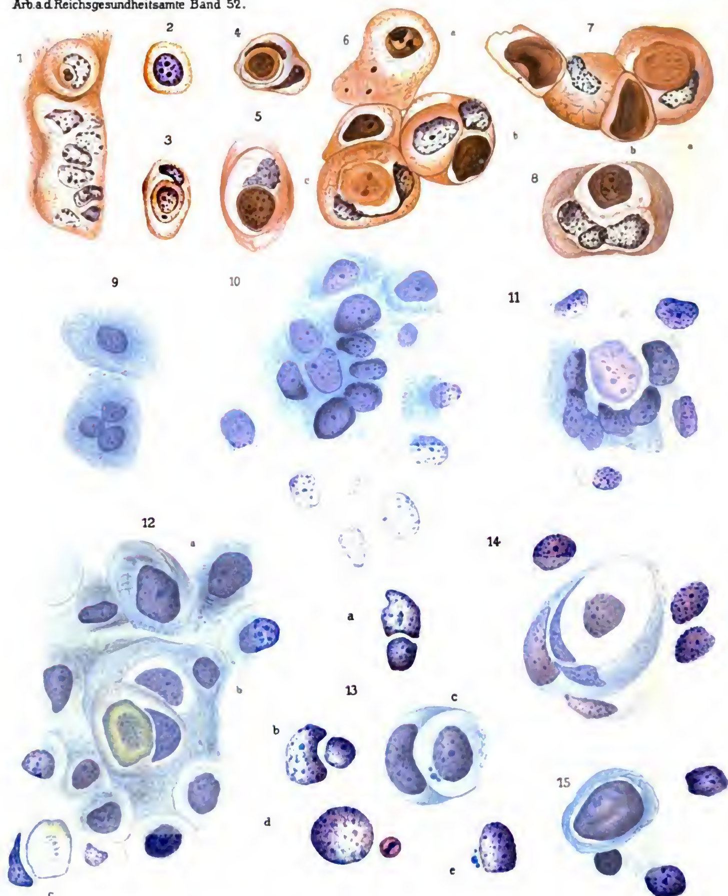






Ungermann u. Zuelzer, Beiträge zur Pockendiagnose.

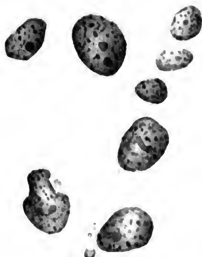
Verlag von Julius Springer in Berlin
Werner u. Winter, Frankfurt a.M.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
a
b
c
d
e

16



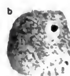
17



a

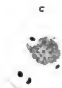


b



19

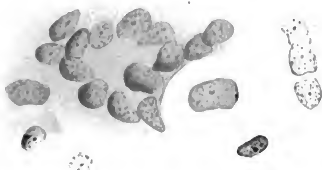
c



d



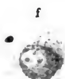
18



e



f



g



20

a



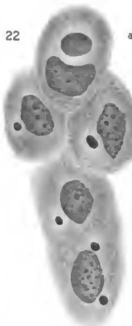
b



21



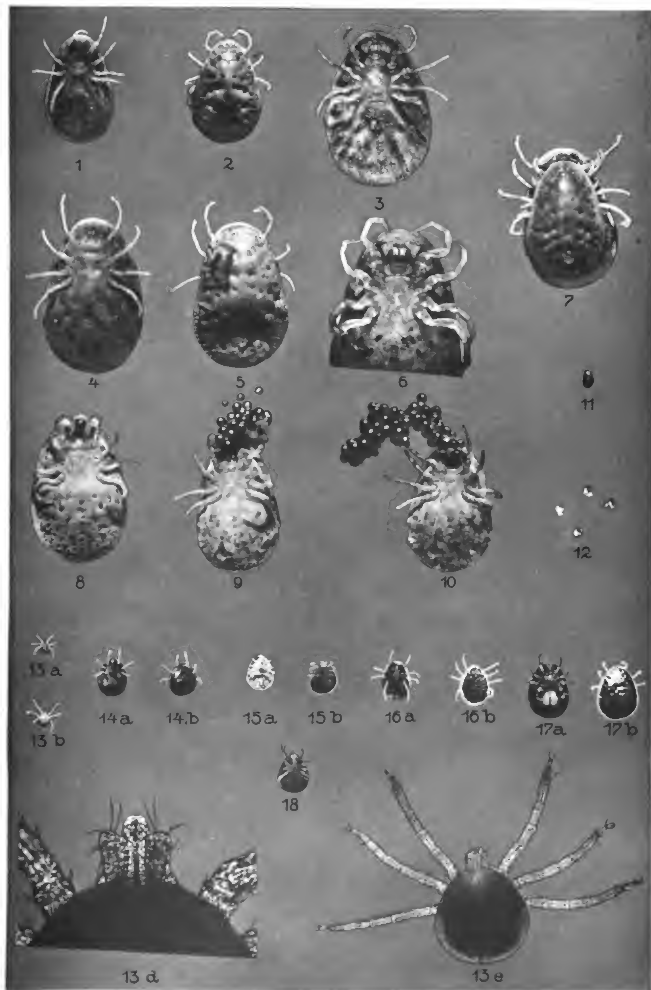
22 a



23



Verlag von Julius Springer in Berlin
Werner u. Winter, Frankfurt a/M


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13 a
13 b
14 a
14 b
15 a
15 b
16 a
16 b
17 a
17 b
18
13 d
13 e

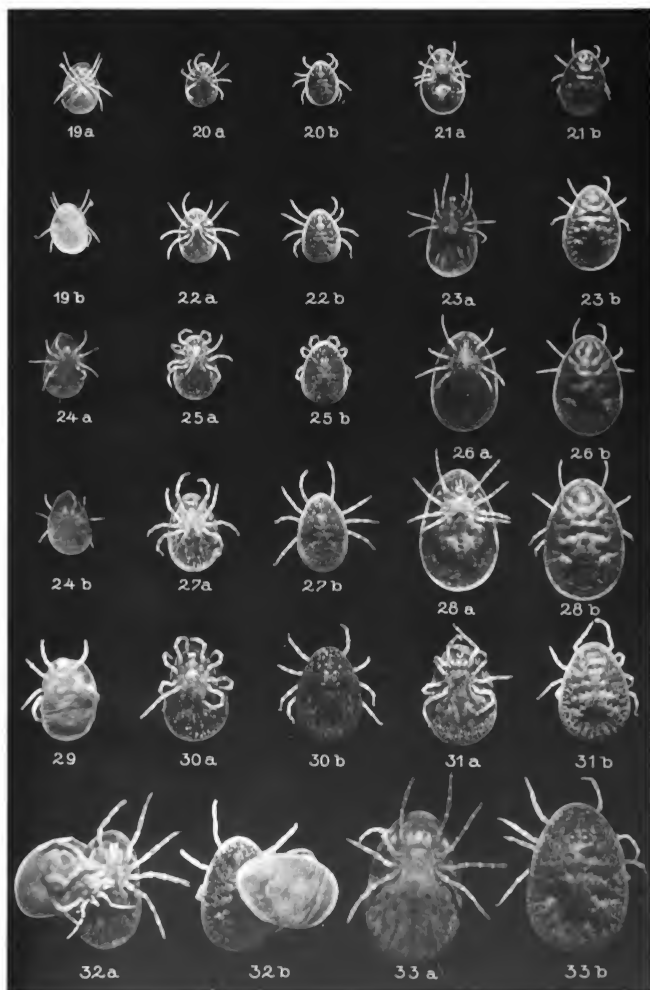

19a
20a
20b
21a
21b
19b
22a
22b
23a
23b
24a
25a
25b
26a
26b
24b
27a
27b
28a
28b
29
30a
30b
31a
31b
32a
32b
33a
33b



Abb. 1.

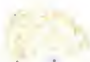


Abb. 2.



Abb. 3.



Abb. 4a.



Abb. 4b.



Abb. 5.



Abb. 6.



Abb. 7.



Abb. 8a.



Abb. 9a.



Abb. 8b.



Abb. 9b.



Abb. 10.



Abb. 11.



Abb. 12.



Abb. 13.

Verlag von **Julius Springer** in **Berlin.**

Siebenundvierzigster Band. — Mit 14 Tafeln und Abbildungen im Texte. — Preis M 32,80.

1. **Dr. B. Pfyl**, Maßanalytische Bestimmung der Phosphate in der Asche von Lebensmitteln.
2. **Dr. med. vet. E. Jahn**, Pyricit, ein neues Desinfektionsmittel für die Schlachthofpraxis.
3. **Dr. E. Haller**, Die Abtötung von Milzbrandsporen an Häuten und Fellen durch Salzsäure-Kochsalzlösungen.
4. **Dr. Fr. Auerbach**, nach Versuchen von Dr.-Ing. Werner Plüddemann, Studien über Formaldehyd. IV. Mitteilung. Die Dämpfe von Formaldehyd und seinen Polymeren.
5. **Prof. Dr. E. Rost**, Zur Kenntnis der hautreizenden Wirkungen der Becherprimel (Primula obconica Hance). (Mit 2 Tafeln.)
6. **Prof. Dr. Uhlenhuth, Prof. Dr. Haendel, Dr. Gildemeister und Dr. K. Schern**, Weitere Untersuchungen über Schweinepest. (Mit 2 Tafeln).
7. **Prof. Dr. E. Rost**, Zur Kenntnis der Wirkungen kresolhaltiger Desinfektionsmittel (Saprol, Lysol, Kreolin) und des Petroleums bei Tieren.
8. **Prof. Dr. A. Schuberg**, Naturschutz und Mückenbekämpfung. Versuche über die Einwirkung zur Vernichtung von Mückenlarven dienender Flüssigkeiten auf Wassertiere und Vögel.
9. **Dr. E. Haller und Dr. W. Rimpau**, Versuche über Abtötung von Typhusbazillen im Organismus des Kaninchens. II. Anwendung von halogensubstituierten Aldehyden der Methanreihe.
10. **Dr. E. Haller und Dr. E. Ungermann**, Weitere Versuche über die Abtötung von Typhusbazillen im Organismus des Kaninchens.
11. **Dr. B. Pfyl u. Dr. R. Turnau**, Maßanalytische Bestimmung des Kaseins in der Milch mittels des Tetraserums.
12. **H. Thierlinger**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in Serbien. Nach Berichten des Kaiserlich Deutschen Konsulats für Serbien in Belgrad und nach anderen Quellen.
13. **Dr. Hull**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in Norwegen. Nach Berichten des Kaiserlichen Generalkonsulats in Kristiania und nach anderen Quellen.
14. **Dr. E. Haller u. Dr. E. Ungermann**, Zur Technik der experimentellen Typhusinfektion.
15. **Dr. E. Haller u. Dr. G. Wolf**, Weitere Versuche zur Infektion des Kaninchens mit Typhusbazillen.
16. **Dr. C. Titze u. H. Lindner**, Das Vorkommen von Tuberkelbazillen in den nicht tuberkulösen Atmungswegen des Rindes mit dem Nebenbefunde von Kapseldiplokokken.
17. **Prof. Dr. A. Schuberg u. Dr. W. Böing**, Über die Übertragung von Krankheiten durch einheimische stechende Insekten. III. Teil.
18. **Dr. A. Müller**, Ein neues Verfahren zum Nachweis spezifischer Bakterien in größeren Wassermengen. (Mit 1 Tafel.)
19. **Dr. E. Haller**, Gelingt eine Sensibilisierung durch Eiweißprodukte und ist sie spezifisch?
20. **Dr. N. Pokschischewsky**, Über die Biologie der Pseudomilzbrandbazillen. Beiträge zur Differentialdiagnose der Milzbrand- und Pseudomilzbrandbazillen. (Mit 4 Tafeln.)
21. **Dr. E. Kallert**, Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche. I. Mitteilung. Über die Bedeutung der v. Betegh'schen Körperchen in der Aphthenlymphe. (Mit 2 Tafeln.)
22. **Dr. E. Kallert**, Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche. II. Mitteilung. Beiträge zur Histogenese und Histologie der Maul- und Klauenseucheblase, insbesondere auch zur Frage des Vorkommens von Einschlußkörperchen in den spezifisch veränderten Teilen bei Maul- und Klauenseuche. (Mit 2 Tafeln.)
23. **Dr. Zwick u. Dr. Zeller**, Zur Frage der Umwandlung von Säugetier- in Hühner-Tuberkelbazillen.

Achtundvierzigster Band. — Mit 6 Tafeln und Abbildungen im Texte. — Preis M 25,80.

1. **Prof. Dr. Küster**, Die Gewinnung, Haltung und Aufzucht keimfreier Tiere und ihre Bedeutung für die Erforschung natürlicher Lebensvorgänge.
2. **Dr. rer. nat. E. Haller u. Dr. med. G. Wolf**, Weitere Versuche zur Abtötung der Typhusbacillen im Organismus des Kaninchens. VI. Behandlung unmittelbar in die Gallenblase infizierter Kaninchen mit verschiedenen Mitteln.
3. **Lindner**, Zur frühzeitigen Feststellung der Tuberkulose durch den Tierversuch.
4. **Lindner**, Einige Heil- und Immunisierungsversuche mit Timotheebacillen gegen Tuberkulose an Meerschweinchen, Kaninchen und Ziegen mit Bemerkungen über den Verlauf der Ziegentuberkulose nach galaktogener Infektion.
5. **E. Gildemeister u. Dr. K. Baerthlein**, Über paratyphusähnliche Stämme. Ein Beitrag zur Paratyphusdiagnose. (Mit 1 Tafel.)
6. **Dr. H. Pick**, Zur Bestimmung kleinster Mengen Blei im Leitungswasser.
7. **Wehrle**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in Frankreich. Nach Berichten von Dr. Haller, früherem landwirtschaftlichem Sachverständigen beim Kaiserl. deutschen Konsulat in Paris.
8. **Wehrle**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in Britisch-Indien und der Kolonie Ceylon. Nach Berichten von Dr. H. Finck, Arzt des Kaiserl. Generalkonsulats in Kalkutta sowie des Kaiserl. Konsulats in Colombo.
9. **Dr. Gminder**, Die Behandlung des ansteckenden Scheidenkatarrhs der Rinder mit Colpitol, Verkalbin, Provaginol, Bissulin und Eucerinsalbe.
10. **Lindner**, Die Tuberkulin-Reaktionen beim Schwein.
11. **Dr. A. F. Schulz**, Über den Arsengehalt moderner Tapeten und seine Beurteilung vom hygienischen Standpunkt.
12. **Dr. B. Pfyl**, Übergang von Kieselsäure in die Milch beim Sterilisieren in Glasflaschen.
13. **E. Wehrle und Dr. E. Kallert**, Schutz- und Heilversuche mit „Trypozafrol" und „Novotrypozafrol" sowie mit „Ernanin" bei Maul- und Klauenseuche.
14. **Dr. Eduard Kallert**, Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche. III. Mitteilung. Die Morphologie und Biologie der von Siegel für die Erreger der Maul- und Klauenseuche gehaltenen „Cytorrhyctes-kokken". (Mit 2 Tafeln.)
15. **Dr. E. Ungermann**, Untersuchungen über Tuberkuloseantikörper und Tuberkuloseüberempfindlichkeit.
16. **Prof. Dr. Küster**, Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung neuerer Händedesinfektionsmethoden.
17. **Dr. C. Schellack und Dr. E. Reichenow**, Coccidien-Untersuchungen III. *Adelea ovata* A. Schn. (Mit 3 Tafeln.)
18. **Dr. Poppe**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in Bulgarien.
19. **Dr. med. vet. C. Maaß**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in Rußland.
20. **Dr. med. vet. Titze**, Das Veterinärwesen einschließlich einiger verwandter Gebiete in den Vereinigten Staaten von Amerika.
21. Gutachten des Kaiserlichen Gesundheitsamts über die Verwertbarkeit von Kartoffelerzeugnissen zur Brotbereitung.

Neunundvierzigster Band. — Preis M 18,40.

1. **Ergebnisse der amtlichen Weinstatistik.** Berichtsjahr 1912/1913. Teil I. Weinstatistische Untersuchungen. Einleitung. Von Dr. A. Günther. — Berichte der Untersuchungsanstalten, welche mit der Ausführung der weinstatistischen Untersuchungen betraut sind. Gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte. — Teil II. Moststatistische Untersuchungen. Berichte der beteiligten Untersuchungsstellen, gesammelt im Kaiserl. Gesundheitsamte.
2. **Dr. P. Förster**, Über die Haltbarkeit von wässerigen Lösungen der schwefligen Säure.
3. **Prof. Dr. Th. Omeis**, Versuche und Untersuchungen zur Erforschung des freiwilligen Säurerückganges im Weine. Versuchsjahr 1912/13. Bericht der Landwirtschaftl. Kreis-Versuchsstation in Würzburg.
4. **Prof. Dr. Th. Omeis**, Versuche und Untersuchungen über die Aufnahme von schwefliger Säure durch den Wein infolge des Schwefelns der Fässer bei den einzelnen Abstichen. II. Versuchsjahr 1912/13. Bericht der Landwirtschaftl. Kreis-Versuchsstation in Würzburg.
5. **Dr. G. Sonntag**, Zu der Verwendung von Arsen und Blei enthaltenden Pflanzenschutzmitteln.
6. **Dr. Chr. Schätzlein u. Prof. Dr. O. Krug**, Untersuchungen über den Einfluß verschiedener kellerwirtschaftlicher Maßnahmen auf den Säurerückgang bei Pfalzweinen.

Fünfzigster Band. — Mit 15 Tafeln und Abbildungen im Texte. — Preis M 25,20.

1. **R. Offermann**, Über die serologischen Untersuchungsmethoden als Hilfsmittel zum Nachweis der Trypanosomenkrankheiten im besonderen der Beschälseuche.
2. **Dr. Köpke**, Über die Bestimmung von Konservierungsmitteln im Kaviar.
3. **Reg.-Rat Dr. Karl Beck und Dr. Merres**, Über die Bestimmung kleiner Arsenmengen mit besonderer Berücksichtigung des Verfahrens von Smith. (Mit 2 Tafeln.)
4. **Dr. G. Reif**, Ein neues Verfahren zur Bestimmung von Methylalkohol neben Äthylalkohol.
5. **Reg.-Rat Prof. Dr. Lange und Dr. Roos**, Über den Befund von Typhusbacillen im Blute von Kaninchen nach Verimpfung in die Gallenblase.
6. **Dr. E. Heller**, Die Abtötung von Milzbrandsporen an Häuten und Fellen durch Natronlauge.
7. **Reg.-Rat Prof. Dr. A. Schuberg und Dr. Carlos Rodriguez**, Thelohania corethrae n. sp., eine neue Mikrosporidienart aus Corethra-Larven. (Mit 2 Tafeln.)
8. **Dr. Lolo Filonczki**, Zur Frage der Verpackung der behufs Vornahme der bakteriologischen Fleischbeschau zur Versendung kommenden Fleischproben.
9. **Dr. W. Lange**, Über die Bestimmung des Fettes in Kakaowaren.

Fortsetzung auf Seite 4.

Verlag von Julius Springer in Berlin.

10. Dr. E. Kallert, Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche. IV. Mitteilung. Die bei Maul- und Klauenseuche im Pansen des Rindes auftretenden Veränderungen. (Mit 2 Tafeln.)
11. Wehrle, Das Veterinärwesen einschl. einiger verwandter Gebiete in Argentinien. Nach Berichten des Kaiserl. Generalkonsulats in Buenos Aires und anderen Quellen.
12. Dr. R. Heise, Über die Einwirkung von Ozon auf Mikroorganismen und künstliche Nährsubstrate, als Beitrag zur Kenntnis der Ozonwirkung in Fleischkühlhallen. 1. Die Einrichtung und Leistung des benutzten Ozonisierungsapparates und die Einwirkung von Ozon auf Bact. coli commune.
13. Dr. W. Kerp, Dr. Franz Schröder und Dr. B. Pfyl, Chemische Untersuchungen zur Beurteilung des Strohmehls als Futter- und Nahrungsmittel. (Mit 6 Tafeln.)
14. Prof Dr. Spitta, Prüfung tragbarer Wasserfilter auf Keimdichtigkeit. Das Militär-Filter Modell 1914 und das Reise- und Armee-Filter A. F. I. der Berkefeld-Filter-Gesellschaft.
15. Gutachten des Reichs-Gesundheitsrates über das duldbare Maß der Verunreinigung des Weserwassers durch Kali-Abwässer, ohne seine Verwendung zur Trinkwasserversorgung von Bremen unmöglich zu machen. (1. Teil.) Mit 1 Übersichtskarte und 6 Anlagen (Tabellen). Berichterstatter: Geheimer Obermedizinalrat Dr. Abel.
16. Dr. G. Sonntag, Über ein Verfahren zur Bestimmung des Fluorgehalts von Knochen und Zähnen normaler und mit Fluoriden gefütterter Hunde.
17. Prof. Ph. Kuhn, Die Behandlung von Typhusbacillenträgern mit Tierkohle.
18. Stabsarzt Dr. Schlemmer, Untersuchungen über den Mechanismus der Ambozeptor- und Komplementwirkung.
19. A. Weitzel, Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des gesalzenen Seefischrogens.
20. Dr. H. von Hövell, Über den Wert der Kohlejodbehandlung echter Typhusbacillenträger.
21. Dr. Theo Bongartz, Über das kombinierte Kohlejodverfahren zur Heilung von Typhusbacillenträgern nach Dr. Kalberlah.
22. Dr. E. Ungermann, Zur Technik der Impfstoffbereitung.
23. Techn. Rat A. Weitzel, Maßanalytische Bestimmung des Chlors in Lebensmitteln usw. ohne Veraschung der Stoffe auf nassem Wege.
24. Prof. Dr. E. Rost, Vergleichende pharmakologische Untersuchung einiger organischer und anorganischer Säuren.
25. Dr. R. Heise, Über die Einwirkung von Ozon auf Mikroorganismen und künstliche Nährsubstrate, als Beitrag zur Kenntnis der Ozonwirkung in Fleischkühlhallen. 2. Mitteilung: Die Einwirkung von Ozon auf künstliche Nährböden und auf verschiedene Bakterien, Hefen und Schimmelpilze. (Mit 2 Tafeln.)

Einundfünfzigster Band. — Mit 5 Tafeln und Abbildungen im Texte. — Preis M 68,40.

1. Prof. Dr. Lentz, Dr. E. Haller und Dr. G. Wolf, Einige weitere Versuche zur Abtötung der Typhusbacillen im Organismus des Kaninchens.
2. Dr. R. Heise, Der Bleigehalt der Luft oberhalb der Bleischmelzkessel in Schriftgießereien.
3. Dr. G. Sonntag, Ein neues Ausschüttelverfahren zur Bestimmung des Fettes im Kot.
4. Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Haendel, Reg.-Rat Dr. Ungermann und Dr. Jaenisch, Experimentelle Untersuchungen über die Spirochaete der Weilschen Krankheit (Icterus infectiosus).
5. Reg.-Rat Dr. E. Ungermann, Züchtung der Weilschen Spirochaete, der Recurrens- und Hühnerspirochaete, sowie Kulturversuche mit der Spirochaeta pallida und Trypanosomen.
6. Dr. phil. Margarete Zuelzer, Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Entwicklung der Weilschen Spirochaete. (Mit 4 Tafeln.)
7. Reg.-Rat Dr. E. Ungermann, Eine einfache Methode zur Gewinnung von Dauerkulturen empfindlicher Bakterienarten und zur Erhaltung der Virulenz tierpathogener Keime.
8. Dr. K. W. Joetten, Fütterungsversuche mit Ruhr- und Typhusbacillen bei Hunden und kleinen Versuchstieren.
9. Dr. K. W. Joetten, Über den Typhusbacillennachweis vermittels des Bierastschen Petrolätherverfahrens und der Bolus-Methode nach Kuhn, sowie über die Verwertbarkeit dieser Verfahren für die bakteriologische Ruhrdiagnose.
10. Gutachten des Reichsgesundheitsrats über das duldbare Maß der Verunreinigung des Weserwassers durch Kali-Abwässer. (2. Teil.) Von Geh. Reg.-Rat Dr. Kerp, Direktor im Reichsgesundheitsamte.

Kleinere Mitteilungen aus den Laboratorien des Reichsgesundheitsamtes:

11. Hirn und Rückenmark der Schlachttiere als Nahrungsmittel. Von Technischem Rat A. Weitzel, Ständigem Mitarbeiter im Reichsgesundheitsamte.
12. Die sogenannten Pathé-Sennesblätter. Von Regierungsrat Dr. O. Anselmino und Geheimem Regierungsrat Prof. Dr. E. Rost, Mitgliedern des Reichsgesundheitsamtes.
13. Dr. W. Wedemann, Versuche mit dem Lobeckschen Biorisator.
14. Prof Dr Spitta und Dr. Förster, Die hygienischen Eigenschaften einiger neuerer Erzeugnisse aus Ersatzfaserstoffen.
15. A. Weitzel, Beiträge zur Bestimmung von Zink in organischen Stoffen — Harn, Kot, Lebensmitteln usw. — nebst Bemerkungen über den Zinkgehalt von Reagentien und Analysengefäßen.
16. Prof. Dr. E. Rost und A. Weitzel, Zur Kenntnis des Vorkommens von Zink (und Kupfer) in den Ausscheidungen und Organen des Menschen und in unseren Lebensmitteln.
17. Dr. G. Rieß, Beitrag zur chemischen Untersuchung gehärteter Fette unter besonderer Berücksichtigung eines Gehalts an Nickel und Arsen.
18. Dr. Friedrich Auerbach und Dr. Gustav Rieß, Über die Bestimmung kleiner Mengen salpetrigsaurer Salze, besonders in Pökelfleisch.
19. Dr. rer. nat. E. Haller, Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife. I. Teil. Die Kresolalkali-Lösungen und ihre Desinfektionswirkung.

Kleinere Mitteilungen aus den Laboratorien des Reichsgesundheitsamtes:

20. Prof. Dr. Spitta, Weitere Untersuchungen über Wasserfilter.
21. Regierungs- und Medicinalrat Dr. Frey, Das Gesundheitswesen im Deutschen Verwaltungsgebiet von Polen in den Jahren 1915—1918.

Zweiundfünfzigster Band. — Heft 1. — Mit 6 Tafeln und Abbildungen im Texte. — Preis M 86,00.

1. Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. E. Rost, Zur Kenntnis des Gießfiebers, mit besonderer Berücksichtigung der Ausscheidungsverhältnisse der aufgenommenen Metalle Zink und Kupfer.
2. Reg.-Rat Dr. E. Ungermann und Dr. Margarete Zuelzer, Beiträge zur experimentellen Pockendiagnose, zur Histologie des cornealen Impfeffekts und zum Nachweis der Guarnierischen Körperchen. (Mit 4 Tafeln.)
3. Dr. Th. Fürst, Über Antagonismus zwischen Vaccine und Milzbrand.
4. Dr. K. W. Jötten, Vergleichende Untersuchungen mit dem Uhlenhuth-Xylanderschen Antiforminverfahren und den von Ditthorn-Schultz sowie von Sobernheim-Brauer angegebenen Anreicherungsmethoden zum Nachweis von Tuberkelbacillen im Sputum.
5. Dr. Gminder, Untersuchungen über das Vorkommen von paratyphusähnlichen Bakterien beim Pferde und ihre Beziehungen zum seuchenhaften Abortus der Stuten.
6. Dr. W. von Schuckmann, Untersuchungen über das serologische Verhalten verschiedener Amöbenstämme.
7. Dr. Margarete Zuelzer, Beiträge zur Biologie von Argas persicus Widh. (Mit 2 Tafeln.)
8. Prof. Dr. E. Rost, Zur gesundheitlichen Beurteilung einiger in der Neuzeit für Genußzwecke empfohlener Fette. I. Teil: Tierphysiologische und pharmakologische Untersuchungen gehärteter pflanzlicher Öle (Baumwollsamen-, Erdnuß-, Lein- und Sesamöl) und des ungehärteten Sesamöls.

Zweiundfünfzigster Band. — Heft 2. — Mit Abbildungen im Texte. — Preis M 42,00.

1. Dr. Victor Froboese, Über das Chlorbindungsvermögen von Wasser und Abwasser.
2. Geh. Regierungsrat Dr. Karl Beck und Dr. Ernst Murroe, Zur Kenntnis der Fleischextrakte und einiger Ersatzstoffe, insbesondere Beiträge zum Nachweis der in den vorstehenden Erzeugnissen vorkommenden Stickstoffverbindungen.
3. Dr. rer. nat E. Haller, Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife.
4. Dr. rer. nat. E. Haller, Vergleichende Versuche über die Einwirkung chemischer Mittel auf Kleiderläuse.
5. Dr. med K. W. Jötten, Untersuchungen über Hefenährböden.

Zweiundfünfzigster Band. — Heft 3. — Mit 1 Tafel und Abbildung im Texte. — Unter der Presse.

1. Prof. Dr. Zwick, Dr. Zeller, Dr. Krage, Dr. Gminder, Die Immunisierung gegen das ansteckende Verkalben.
2. Dr. med. vet. Cl. Glage, Die Diagnose und Bekämpfung der Rotzkrankheit mit Hilfe der Malleinisierung und der Blutuntersuchung.
3. Dr. H. Zeller, Über Pocken bei Ziegen Südwestafrikas.
4. Stabsarzt a. D. Schlemmer, Über Antikörper gegen Lipoide und Eiweißkörper im Typhusserum und die Ursache des Neißer-Wechsbergschen Phänomens.
5. Prof. Dr. L. Lange, Versuche über die Verwendbarkeit des Holzessigs als Ersatz für den Sabadillessig bei der Läusebekämpfung.

Druck von E. Buchbinder in Neuruppin.

